



CENTRO UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA EDUCAÇÃO E SAÚDE – FACES
CURSO DE BIOMEDICINA

ALINE JANUZZI CANTANHEDE

**O DIAGNÓSTICO GENÉTICO PRÉ-IMPLANTACIONAL E AS
TÉCNICAS DE REPRODUÇÃO HUMANA ASSISTIDA**

Trabalho de conclusão de curso em formato de artigo elaborado como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Biomedicina, sob a orientação da Prof.^a Dr.^a. Fernanda Costa Vinhaes de Lima.

BRASÍLIA
2020

Agradecimentos

Agradeço a Deus por todas as bênçãos e oportunidades que Ele sempre me concedeu.

Agradeço toda a minha família por sempre me ajudar e me dar forças para continuar com todos os meus objetivos. Em especial aos meus pais, Denise e Flávio, que sempre me incentivaram a ser uma pessoa melhor, por todos os ensinamentos e por não medirem esforços para que eu atingisse meus sonhos, sempre como muito amor, alegria e respeito.

Aos meus avós, que são meus anjos, e sempre confiaram em mim e me incentivaram. Agradeço por todos os ensinamentos e puxões de orelha, como também por sempre estarem por perto, cuidando de mim.

A minha irmã, Júlia, por toda a paciência, amizade, apoio, risadas, incentivos e cumplicidade. Ao meu namorado, Paulo Victor, por sempre estar do meu lado, por todo o amor, carinho e companheirismo todos os dias, me incentivando sempre e confiando nas minhas escolhas e por sempre me ajudar. Agradeço também as minhas primas, Maria Clara e Giovana, por me alegrarem até mesmo nos dias mais difíceis e me ajudarem a estudar.

Agradeço a todos os meus amigos, desde os mais antigos como aos que ganhei no curso, por todos os momentos incríveis e ajuda.

Gostaria de deixar o meu profundo agradecimento a todos os meus professores do curso pelos ensinamentos. Ao professor Paulo Queiroz por me inspirar, tanto profissionalmente como pessoa. E em especial, agradeço a minha orientadora Fernanda Vinhaes, por também ter sido um exemplo para mim, desde a primeira aula de genética humana e por aceitar a me orientar nesse trabalho, por todo o apoio e paciência ao longo da elaboração.

Por fim, gostaria de deixar meus agradecimentos a todos que de alguma forma me incentivaram e fazem parte da minha vida.

O diagnóstico genético pré-implantacional e as técnicas de reprodução humana assistida

Aline Januzzi Cantanhede¹
Fernanda Costa Vinhaes de Lima²

Resumo

A partir da análise genética e das técnicas de reprodução assistida, que sofreram avanços tecnológicos significantes, foi possível a implementação do diagnóstico genético pré-implantacional (DGPI). Essas metodologias, em conjunto, visam o nascimento de crianças saudáveis, livres de anomalias. O objetivo desse trabalho foi demonstrar a importância do DGPI para o sucesso das técnicas de reprodução assistida, por meio de uma revisão bibliográfica em formato narrativo realizada no período de 2014 a 2020. As técnicas de DGPI possibilitam diagnóstico e prevenção precoce, tanto de falhas genéticas como cromossômicas, a partir da seleção embrionária, cuja aplicabilidade varia de acordo com seu objetivo de tratamento. A biópsia embrionária, obtida para os procedimentos de fertilização *in vitro* (FIV) e injeção intracitoplasmática de espermatozoide (ICSI), possibilita a aplicação das técnicas de bioinformática que abrangem o tratamento de DGPI, exemplificadas pelas técnicas de PCR, FISH, a-CGH, a-SNP e NGS. Mesmo apresentando alguns obstáculos, como o mosaicismo, as técnicas de bioinformática proporcionam suporte para enfrentá-los. Assim, é possível identificar que o diagnóstico pré-implantacional apresenta êxito em sua maioria e consequentemente faz com que a taxa de gravidezes bem-sucedidas aumente, uma vez que abortos espontâneos podem ocorrer por síndromes genéticas.

Palavras-chave: DGPI, reprodução assistida, síndromes, genética.

Pre-implantation genetic diagnosis and assisted human reproduction techniques

Abstract

After the genetic analysis and the assisted reproductive techniques, which experienced significant technological advances. It was possible to employ the pre-implantation genetic diagnosis (PGD). These methodologies taken together aim the birth of healthy children, free from anomalies. The purpose of this project was to demonstrate the importance of the PIGD for the success of assisted reproduction techniques, through a bibliographic review which was written on narrative format, performed between 2014 to 2020. The PIGD techniques are responsible to enable early diagnosis of chromosomal genetic flaws, from embryonic selection, when it is going to be applied depends on your treatment objectives. The embryonic biopsy, obtained for in vitro fertilization procedures (IVF) and intracytoplasmic sperm injection (ICSI) are responsible to enable the application of bioinformatic techniques and it touches the PIGD treatment adduced by PCR, FISH, a-CGH, a-SNP and NGS respectively. Even with some obstacles, like the mosaicism, the bioinformatic techniques offers enough support to face those setbacks. This way it is possible to identify when preimplantation diagnosis are successful and consequently the successful pregnancy rates suffer an increase, since miscarriages can occur due to genetic syndromes.

Key words: PGD, assisted reproduction, syndromes, genetics.

¹Graduanda do curso de Biomedicina do Centro Universitário de Brasília (UniCEUB)

²Doutora em Patologia Molecular. Professora do Centro Universitário de Brasília (UniCEUB)

1 INTRODUÇÃO

O período gestacional acompanha diversas mudanças fisiológicas, hormonais e psicológicas, onde, na maioria dos casos, se conduz de maneira saudável sem maiores complicações. Desta forma, uma vez que a gravidez pode causar sobrecarga emocional e física, o acompanhamento pré-natal, além de proporcionar o bem-estar para as mulheres grávidas em muitos setores, assegura a saúde materna e acompanha o processo de desenvolvimento fetal. Desta forma, torna-se possível a detecção e prevenção precoce de patologias que possam causar risco para ambos nesse processo, diminuindo assim a taxa de morbimortalidade (NUNES et al., 2016).

O pré-natal apresenta variados objetivos, entre eles focado na saúde fetal. Ainda assim, existem abordagens e metodologias diferentes. No que se refere às doenças genéticas estão, principalmente, os métodos de diagnóstico genético pré-implantacional (DGPI) associado as técnicas de reprodução assistida. Esse tipo de diagnóstico visa identificar mutações gênicas e cromossômicas para, então, garantir a transferência de embriões livres de anomalias e permitir o aconselhamento genético, a partir da manipulação laboratorial (CHEN et al., 2018).

Assim, com o avanço tecnológico e a modernização da sociedade, as técnicas de reprodução assistida (RA) para o tratamento de subfertilidade e infertilidade como, por exemplo, as técnicas de fertilização in vitro (FIV) e a injeção intracitoplasmática de espermatozoide (ICSI) se tornam mais requeridas e procuradas. Tal avanço permitiu dar início às investigações sobre DGPI e, conseqüentemente, esses estudos trouxeram a possibilidade de diagnóstico precoce pré-natal, em 1990, com a primeira criança nascida após essa nova metodologia (LOPEZ-RIOJA et al., 2018).

Atualmente, o DGPI se divide em duas subcategorias que evidenciam objetivos e protocolos diferentes. Uma delas é o DGPI para doenças monogênicas (PGT-M ou PGD), cuja finalidade é a detecção de mutações gênicas. A outra, denominada *Screening* Genético Pré-Implantacional (PGT-A ou PGS) detecta alterações cromossômicas no cariótipo. Para que tais avaliações sejam possíveis, é necessário a realização de biópsias embrionárias, que se diferenciam de acordo com a escolha metodológica do tratamento (PALMEROLA et al., 2019).

As biópsias embrionárias têm suma importância para os procedimentos uma vez que, a partir delas, é possível que se faça a análise do material genético. Existem três formas de realização, variando entre eles na quantidade de dias e células disponíveis para cada método de retirada celular embrionária. Essas podem ser executadas a partir das técnicas de aspiração do primeiro e segundo corpúsculo polar de oócitos fertilizados, da remoção das células do

trofoblasto no estágio de blastocisto ou então pela remoção de um ou dois blastômeros de pré-embriões na fase precoce de clivagem. Todavia, só é possível extrair células embrionárias com a realização das técnicas de reprodução assistida (CIMADOMO et al., 2016).

Deste modo, como anteriormente descrito, a partir das técnicas de RA é possível a obtenção de células embrionárias cujo procedimento é de suma importância para a realização do diagnóstico genético pré-implantacional. Com primeiro sucesso, em 1978, na Inglaterra, desenvolveu o conjunto de técnicas que abrangem a reprodução assistida que consiste em manipular e unir o material coletado e promover a fecundação por procedimentos laboratoriais, promovendo uma gestação. Tais medidas auxiliam a solucionar as adversidades e patologias presentes na natureza da reprodução. Podem ser divididas como homóloga, onde são utilizados gametas dos próprios cônjuges, ou; heteróloga, quando há doação de pelo menos um dos gametas, aprimorada com a associação de progressos de introdução de hormônios para a estimulação ovariana e a criopreservação dos gametas (SOUZA; ALVES, 2016).

Existem diversas técnicas de fecundação realizadas em laboratório as quais podem ser divididas em invasivas e não invasivas. Entre elas, existem a fertilização in vitro (FIV) e a injeção intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI), que apresentam uma forma mais invasiva de tratamento, pela necessidade de biopsia embrionária e a coleta de gametas. Uma vez que seu protocolo já requer a retirada do material biológico para análise e acompanhamento em meio laboratorial. A FIV e a ICSI são as técnicas mais utilizadas para a realização do DGPI (LINA et al., 2016).

Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivo descrever a importância do diagnóstico genético pré-implantacional para os resultados dos tratamentos de reprodução humana assistida, focando nas descrições das técnicas, bem como em suas aplicabilidades.

2 METODOLOGIA

Trata-se de uma revisão bibliográfica do tipo narrativa, que segundo Sousa et al. (2018), caracteriza-se por um trabalho elaborado a partir de diferentes métodos, como estudo da literatura publicada em livros, artigos de revista impressas, eletrônicas na interpretação e análise crítico pessoal do autor. Apropriadas para descrever e discutir o desenvolvimento de um determinado assunto, sob ponto de vista teórico ou contextual.

Para a sua realização foram coletadas informações das bases de dados Scielo (Scientific Electronic Library Online), PubMed (Public Medline), BVS (Biblioteca Virtual em Saúde),

Google Acadêmico, sites institucionais e livros. Para a busca foram utilizadas as palavras-chave: “reprodução humana”, “reprodução assistida”, “pré-implantacional”, “diagnóstico de reprodução”, “biópsia embrionária”, “histórico da reprodução”, “reprodução humana” e “diagnóstico pré-implantacional”, todas em inglês e português, utilizadas separadamente e aos pares com o auxílio do conector “AND/E”.

Foram selecionados 03 sites institucionais e 77 artigos científicos publicados entre 2014 e 2020, porém, para melhor compreensão do tema, foram utilizados artigos mais antigos, considerados clássicos e relevantes para a fundamentação da revisão. Os artigos, teses e livros utilizados estavam escritos nos idiomas: português, inglês e espanhol; na íntegra.

3 DESENVOLVIMENTO

3.1 HISTÓRICO E LEGISLAÇÃO

Entende-se por reprodução humana assistida (RA) o conjunto de técnicas realizados pela manipulação de gametas, em laboratório, que visam o tratamento de problemas no processo natural de concepção (FARQUHAR; MARJORIBANKS, 2018). A partir de estudos e da evolução técnico-científica, as respostas a esses procedimentos têm melhorado e assim, sua procura vem crescendo (SILVA et al., 2018).

Com o aprimoramento das técnicas de fertilização *in vitro* (FIV) e os estudos do desenvolvimento do embrião foi possível a sua aplicabilidade em humanos. Os avanços nessa área foram consequência de dificuldades no tratamento de infertilidade associada a dificuldade de adoção, entre os anos de 1960 a 1978. Com a ajuda da laparoscopia, surgida em 1960, foi possível a observação dos óvulos e a aplicabilidade de técnicas adjacentes. Como consequência desses estudos, em 1978, nasce o primeiro “bebê de proveta” do mundo, Louise Brown, em Manchester, na Inglaterra. Em seguida, no ano de 1990 foi introduzida a técnica de injeção intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI) em tratamentos de infertilidade masculina (ESKEW, JUNGHEIM, 2017).

No entanto, com a implementação dessa nova tecnologia de tratamento, diversas questões conflitantes foram levantadas quando os resultados dos primeiros experimentos em animais foram publicados, referentes a juridicidade ética e moral dos embriões utilizados. As discussões ocorreram a partir do questionamento do momento em que ocorre o início da vida, trazendo também as preocupações sobre o seu congelamento, descarte, abandono, sexagem e

até mesmo sobre a realização do diagnóstico genético pré-implantacional (DGPI) (ASPLUND, 2019).

A técnica de DGPI analisa geneticamente as células embrionárias, com o objetivo de selecionar os embriões mais promissores para implantação. Essa metodologia iniciou-se a partir da biópsia de blastocistos de coelho com o intuito de determinação do sexo desses animais, bem como da agregação com as técnicas de FIV e ICSI, permitindo o tratamento de doenças de caráter genético. Desta forma, em 1990, foi obtido o primeiro processo bem-sucedido do diagnóstico molecular que visou evitar o nascimento de criança com adrenoleucodistrofia, uma doença recessiva ligada ao cromossomo X, utilizando a metodologia do PCR na amplificação gênica. Posteriormente, o diagnóstico foi implementado no tratamento de outras síndromes, como a anemia de Fanconi, mielodisplasia e beta-talassemia e em clínicas de reprodução, já que a técnica também é eficiente para evitar abortos (RODRIGUES et al., 2020).

Mesmo com todas essas questões, a regulamentação das técnicas de RA e do DGPI varia de acordo com cada país. No Brasil, ainda não existe lei que trate exclusivamente desta temática. O país está aguardando a tramitação do Projeto de Lei 1184/2003 no Congresso Nacional para que o assunto seja inserido, normatizado e previsto em seu sistema legal. Enquanto isso, o Conselho Federal de Medicina (CFM) regulamenta a questão. A expressão Reprodução Assistida foi instituída de forma normativa, pela primeira vez, pelo CFM, por meio da Resolução CFM nº 1.358, publicada em 19/11/1992 (ARAUJO; ARAUJO, 2018).

Matérias relacionadas com o tema já foram introduzidas no ordenamento jurídico do país de forma espaçada. A Lei 11.105/2005, a chamada Lei de Biossegurança estabeleceu normas de segurança e mecanismos de fiscalização de atividades que envolvam organismos geneticamente modificados (OGM) e seus derivados; criou o Conselho Nacional de Biossegurança – CNBS, reestruturou a Comissão Técnica Nacional de Biossegurança – CTNBio e dispôs sobre a Política Nacional de Biossegurança – PNB. O seu art. 5º, permite a utilização de células-tronco embrionárias, produzidas por fertilização in vitro, para fins de pesquisa e terapia. O Decreto 5.591/2005 regulamenta dispositivos da Lei de Biossegurança que, entretanto, não pode ser considerada regulamentadora das técnicas de reprodução assistida. As Resoluções 23/2011 e 72/2016 da ANVISA regulamentam o funcionamento dos Bancos de Células e Tecidos Germinativos e embriões humanos para uso terapêutico (TRINDADE, 2017).

O Código Civil Brasileiro trata o assunto apenas sob o aspecto da paternidade, nos casos de filhos a partir das técnicas de RA, fazendo distinção entre a fertilização in vitro/fertilização in vivo, e as formas homólogas/heterólogas de fecundação para presumir a paternidade em cada uma delas. Entretanto, em nenhum de seus artigos, trouxe modo de regularizar as técnicas

utilizadas. Além disso, pode-se dizer que resguarda a utilização dos embriões fecundados quando discorre em seu art. 2º que os direitos do nascituro estão salvos pela lei desde a concepção (RIBEIRO, 2016).

O desenvolvimento da ciência e os avanços das técnicas de reprodução assistida são frutos do progresso tecnológico da medicina e sua utilização em escala cada vez maior é inevitável, pois visam melhorias nos procedimentos de reprodução e trazem esperanças de tratamentos de saúde em várias outras áreas. A legislação, entretanto, não tem acompanhado essa evolução na mesma celeridade. Por esse motivo, as questões relacionadas a direitos humanos, violação à diversidade, ameaça ao patrimônio genético humano, questões de paternidade biológica e socioafetiva e utilização ética do resultado dos trabalhos são preocupações que impulsionaram o Conselho Federal de Medicina a orientar os profissionais da área médica, além de impor limites e sanções para algumas práticas (LEITE, 2019).

Dessa forma, o Conselho Federal de Medicina publicou em 2017 a Resolução CFM nº 2.168, vigente no país. Ela adota as normas éticas para a utilização das técnicas de reprodução assistida – sempre em defesa do aperfeiçoamento das práticas e da observância aos princípios éticos e bioéticos que ajudam a trazer maior segurança e eficácia a tratamentos e procedimentos médicos. Permite a realização do DGPI, até mesmo para casos de terapia gênica e proíbe a sexagem fetal, com exceção de casos com objetivo de evitar doenças ligadas ao sexo. Estabelece, também, tempo de desenvolvimento *in vitro* máximo de até 14 dias. Do mesmo modo, possibilitou a pessoas saudáveis receber esse tratamento, atualização do tempo de descarte do embrião que diminuiu de 5 para 3 anos, adicionou a possibilidade de filha e sobrinha a participarem de gestação de substituição, como também possibilitou o uso de preservação de gametas em pacientes oncológicos. Mesmo não tendo força normativa geral, a resolução do Conselho Federal de Medicina atua como bússola ética e controladora das atividades do corpo médico brasileiro (CFM, 2017).

3.2 DIAGNÓSTICO GENÉTICO PRÉ-IMPLANTACIONAL (DGPI)

No processo de divisão celular, os cromossomos presentes no núcleo celular, ficam mais individualmente perceptíveis, permitindo assim o estudo de suas particularidades e patologias. A ciência que permite o estudo dessas características cromossômicas é denominada de citogenética. Os genes presentes nesses cromossomos carregam informações específicas, tendo um padrão referente a cada cromossomo. A partir desse padrão de bandas é possível a identificação de anormalidades genéticas. Assim, o estudo citogenético é realizado em vários

âmbitos, como na citogenética tumoral, na detecção de anormalidades cromossômicas em pacientes que já apresentam alterações clínicas, como também na análise pré-natal e no diagnóstico de abortos recorrentes e de infertilidade (SCHAEFERET al., 2020).

Levando em consideração fatores biológicos tanto femininos quanto masculinos, a infertilidade e esterilidade vem sendo um problema para casais que pretendem engravidar. Consequentemente ao progresso das técnicas de reprodução humana assistida, na resolução desses problemas conjugais, o diagnóstico genético pré-implantacional (DGPI) surgiu originalmente para reduzir as chances de transmissão entre gerações de doenças genéticas, voltado a aumentar as taxas de sucessos nos tratamentos de reprodução assistida. Permitindo a escolha de um embrião considerado saudável e possibilitando as famílias chances de constituir uma família (CARDIN; GUERRA, 2019).

Baseado nas técnicas de biologia molecular e engenharia genética, o DGPI é utilizado durante os procedimentos de reprodução assistida com o objetivo de selecionar os embriões ausentes da doença genética em questão. Com esse procedimento é possível observar alterações genéticas e cromossômicas em embriões ainda em divisão, antes mesmo que ocorra sua transferência e sem causar danos ao desenvolvimento embrionário. Além de serem técnicas de diagnóstico pré-natal menos invasivas em relação às técnicas convencionais como, por exemplo, a amniocentese e cordocentese (LUO et al., 2019).

O DGPI pode ser indicado em duas situações, sendo uma, em casos onde se encontra alto risco de hereditariedade da alteração genética à prole. E a outra, em casos de rastreio de aneuploidias objetivando o aumento de gestações bem-sucedidas para casais que escolhem utilizar dos tratamentos de FIV e ISCI, principalmente para aqueles que apresentam aborto recorrente (AR), falha repetida de implantação (FRI) e idade materna avançada (IMA) (SATIRAPOD et al., 2019).

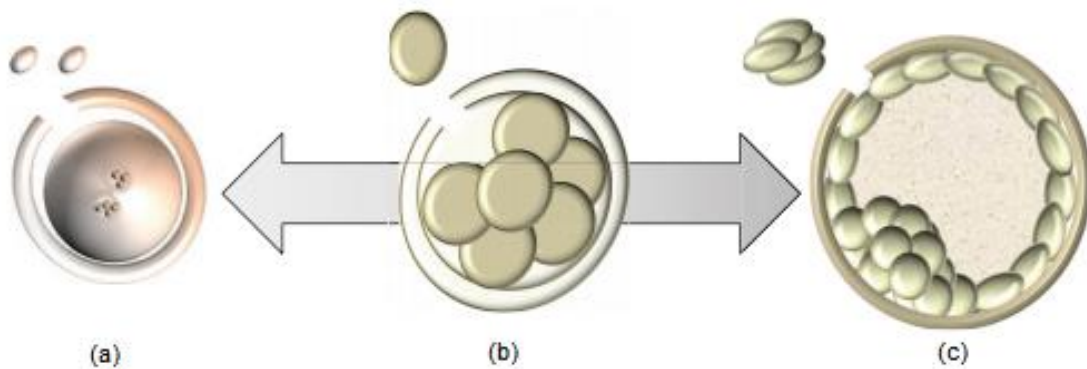
O DGPI apresenta subdivisões, tais como PGT-M e o PGT-A que se diferenciam em seus objetivos genéticos da análise. Enquanto o PGT-M foca em examinar doenças genéticas de um gene específico, como o gene CFTR da fibrose cística, por exemplo, o PGT-A analisa doenças cromossômicas, como a trissomia do 21, conhecida como síndrome de Down. Sendo assim, o PGS é um acompanhamento da integridade normal dos cromossomos e a partir disso permite a identificação de alguma anormalidade cromossômica carregada pelo embrião (PIZZATO et al., 2017).

As informações adquiridas no PGT-A são também de extrema importância para o aconselhamento genético, uma vez que permite saber a existência ou não de pré-embriões euplóides no ciclo e assim possibilita estimular o casal a dar continuidade ao tratamento ou

então optar por outro caminho, como a utilização de gametas doados (HABIBZADEH et al., 2020).

A execução das técnicas é realizada a partir de biópsias pré-implantacionais, onde se extrai células do embrião ou ovócito utilizando micromanipulação e ferramentas próprias para o procedimento. A biópsia das células pode ser feita por três métodos distintos (Figura 1). O primeiro se fundamenta em recolher um ou dois blastômeros de pré-embriões em sua fase de clivagem, onde é feita uma dissecação na zona pelúcida para captação dos blastômeros. Esse procedimento é realizado quando se apresenta entre seis a oito células trofoblásticas, por volta do terceiro dia de desenvolvimento em cultura (LAL et al., 2020).

Figura 1. Estágios de realização da biópsia embrionária. Sendo elas: (a) biópsia de corpúsculo polar, (b) biópsia no estágio de clivagem e (c) biópsia no estágio de blastocisto.



Fonte: Adaptado de CIMADOMO et al., 2016.

Na biópsia de blastômero único existe a prevalência de mosaicismos. O mosaicismismo é a manifestação desigual do conteúdo cromossômico em algumas células embrionárias. Uma vez que apresenta uma taxa elevada desse fenômeno, pode-se concluir que o mosaicismismo seja comum no desenvolvimento embrionário inicial, referente a erros de segregação durante a mitose. Desta forma, pode-se dizer que é um fator limitante na técnica de PGT-A, por aumentar as chances de erros diagnósticos, já que a anomalia pode não ser identificada (ESFANDIARI; BUNNELL; CASPER, 2016).

O segundo tipo de biópsia permite analisar uma quantidade maior de células, e assim as chances de sucesso são mais elevadas, uma vez que acontece em sua fase de blastocisto, no quinto dia de desenvolvimento, apresentando entre 32 a 64 células. A terceira possibilidade é a biópsia feita antes da fertilização, obtida pela aspiração do primeiro ou segundo corpúsculo polar, limitada ao conhecimento genético materno por não carregar informações de natureza

masculina. Para todas as opções de técnicas de biópsia, é necessário o rompimento da zona pelúcida por meio de um laser, para ser possível a coleta das células (WILDING et al., 2019).

A aplicabilidade do diagnóstico abrange as desordens em um único gene, onde é necessário a utilização de PCR com marcadores fluorescentes para evitar erros e amplificar o material. Assim sendo, as doenças autossômicas dominantes, recessivas ou então ligada ao X. As anomalias ligadas ao cromossomo X tem como preferência a técnica de FISH, já que a identificação de gênero por PCR pode suceder a erros, assim exemplificadas pela síndrome do X-frágil e Distrofia Muscular de Duchenne (DMD). Além disso, é aplicado a anormalidades cromossômicas numéricas, translocações, inversões, deleções, duplicações e polimorfismos. Como também, na pesquisa de compatibilidade do antígeno leucocitário humano (HLA) para doação de células tronco compatíveis retiradas do cordão umbilical (MAGALHÃES, 2016).

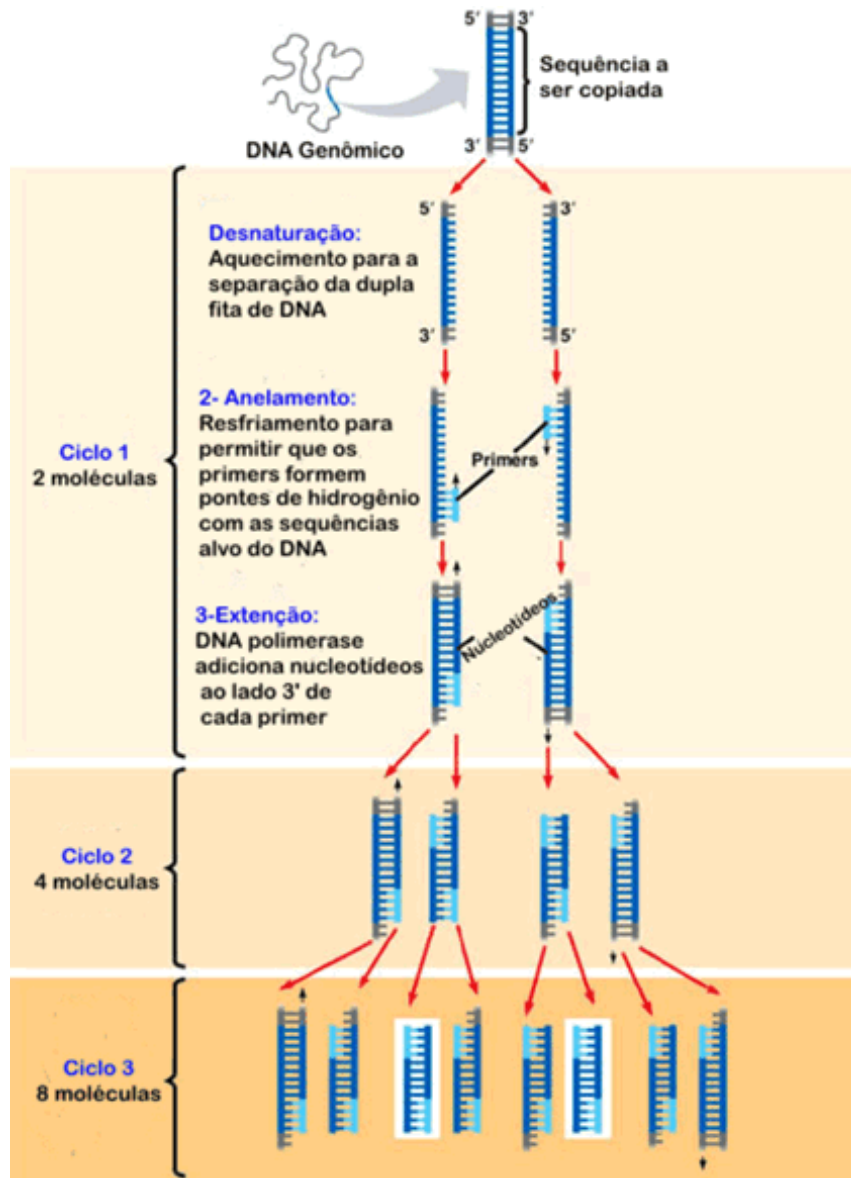
Assim, o diagnóstico genético sofreu influência da evolução tecnológica da mesma forma como outras técnicas de reprodução assistida. Tal evolução é significativa para análise gênica e cromossômica, o qual possibilitou a análise de fragmentos pequenos de DNA. Desta forma, as análises incluem técnicas como de reação em cadeia de polimerase (PCR), hibridização *in situ* por fluorescência (FISH), hibridização genômica comparativa (CHG), SNP array com Apoio Parental (a-SNP-APa) e sequenciamento de nova geração (NGS) (VAIARELLI et al., 2016).

3.2.1 Reação em cadeia de polimerase – PCR

A técnica de PCR ou reação em cadeia da polimerase baseia-se na síntese de cópias dos ácidos nucleicos de uma única molécula a partir da atividade enzimática, promovendo assim, a duplicação das cadeias de DNA *in vitro*. É dividida em etapas como a de desnaturação, de anelamento e de extensão (Figura 2), nas quais são utilizadas diferentes temperaturas tornando possível a amplificação gênica do material em estudo (SILVA et al., 2016).

As técnicas de amplificação, como o PCR, estão presentes para diversos objetivos e áreas, tendo assim, um leque amplo de aplicabilidade. O avanço tecnológico proporcionou o aprimoramento da técnica de PCR convencional, levando ao surgimento do PCR em tempo real (qPCR), este possibilita a quantificação do material, podendo assim interferir no tratamento. Dessa forma, o qPCR permite o acompanhamento e monitoração da reação em tempo real, baseado na detecção da fluorescência proporcionada pelo acúmulo de material amplificado na reação. Do mesmo modo, comparado ao PCR convencional, os resultados são mais rápidos e o risco de contaminação é menor, além de apresentar alta especificidade e sensibilidade. Para o PCR em tempo real, o resultado é emitido sem a necessidade do gel de agarose, gerando um gráfico pela emissão da fluorescência (BREZINA et al, 2016).

Figura 2. Esquematização dos ciclos de PCR ilustrado pelas etapas de desnaturação, anelamento e extensão.



Fonte: Adaptado de SÓ BIOLOGIA, 2020.

Em relação ao diagnóstico pré-implantacional, após amplificação, pela técnica de PCR, é feita a análise da sequência alvo. Entretanto, apresenta suas limitações devido à baixa quantidade de material e chances de contaminação da amostra. Todavia, tem sido a escolha de preferência em casos de tratamento para síndromes de um gene único, sendo recomendável para análise de doenças monogênicas. Como exemplo, pode-se citar o diagnóstico de Atrofia Muscular Espinhal, Fibrose Cística, Doença de Huntington, Síndrome do X-frágil, entre outras (DESTOUNI et al., 2016).

3.2.2 Hibridização *in situ* por fluorescência – FISH

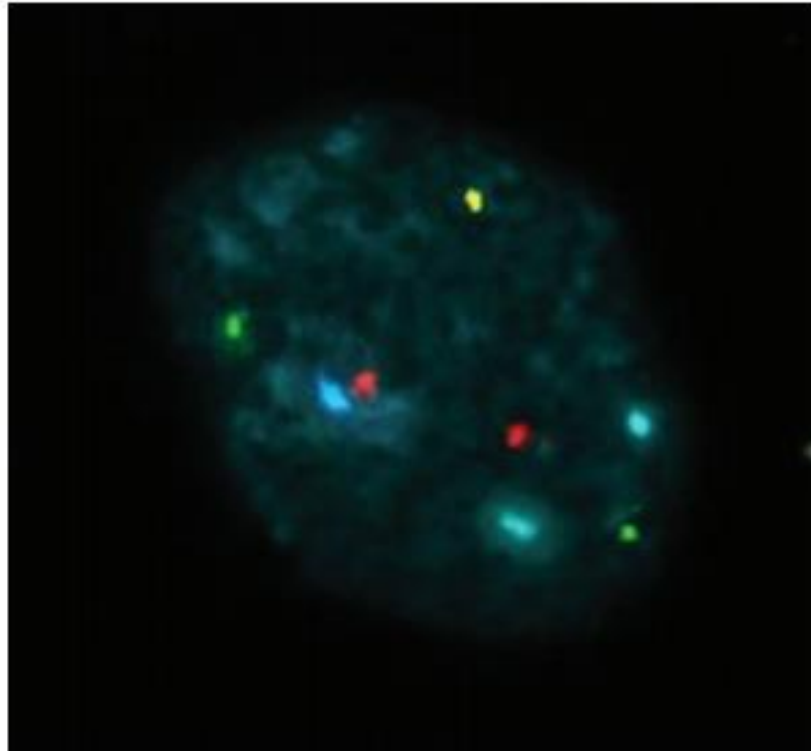
A técnica de hibridização *in situ* por fluorescência é uma técnica de citogenética utilizada para análise da presença ou ausência de uma sequência específica de DNA. Para a análise dos resultados é utilizado um microscópio de fluorescência que registra a fluorescência, uma vez que se tem a hibridização ou não hibridização das sondas acopladas com fluoróforos à parte do cromossomo em estudo. Caso haja hibridização o sinal fluorescente é ativado, qualificando assim a presença de determinada sequência. Por outro lado, caso não se tenha a hibridização, não será produzido o sinal fluorescente, indicando ausência de tal parte (ASIF et al., 2018).

Deste modo, a capacidade do microscópio de fluorescência de captar a luz confere e qualifica a sensibilidade da técnica. Determinado pela viabilidade de identificação de sequências menores, que são mais difíceis de serem identificadas. A sensibilidade da técnica foi aprimorada no decorrer das variações existentes das técnicas de hibridização. Outro fator importante de avaliação para a realização de FISH é a resolução do procedimento, onde é avaliado a capacidade de distinção entre dois pontos presentes na extensão cromossômica (CHAO et al., 2018).

As metodologias de hibridização *in situ* ajudaram cientistas no estudo das posições específicas de determinada sequência de DNA ao longo do cromossomo. Exercendo função primária no mapeamento genético humano. Todavia, atualmente a hibridização fluorescente *in situ* é dificilmente utilizada para esse propósito, ganhando assim novos objetivos como o diagnóstico genético, para detecção de deleções, duplicações, translocações e até mesmo aneuploidias (KURAHASHI et al., 2016).

A técnica permite determinar a presença ou a ausência dessas sequências de DNA analisadas (Figura 3), porém, apresenta limitações por não abranger uma quantidade significativa de genes no teste, capaz assim de analisar somente os cromossomos 13, 14, 15, 16, 17, 18, 20, 21, 22, X e Y dos 23 pares presentes no genoma (LISS et al., 2016).

Figura 3. Célula embrionária após realização do PGT-A coerente com complemento cromossômico masculino normal. Material genético de um blastômero hibridizado com sondas específicas para o cromossomo 13 (vermelho), 18 (aqua), 21 (verde), X (azul) e Y (amarelo ouro).



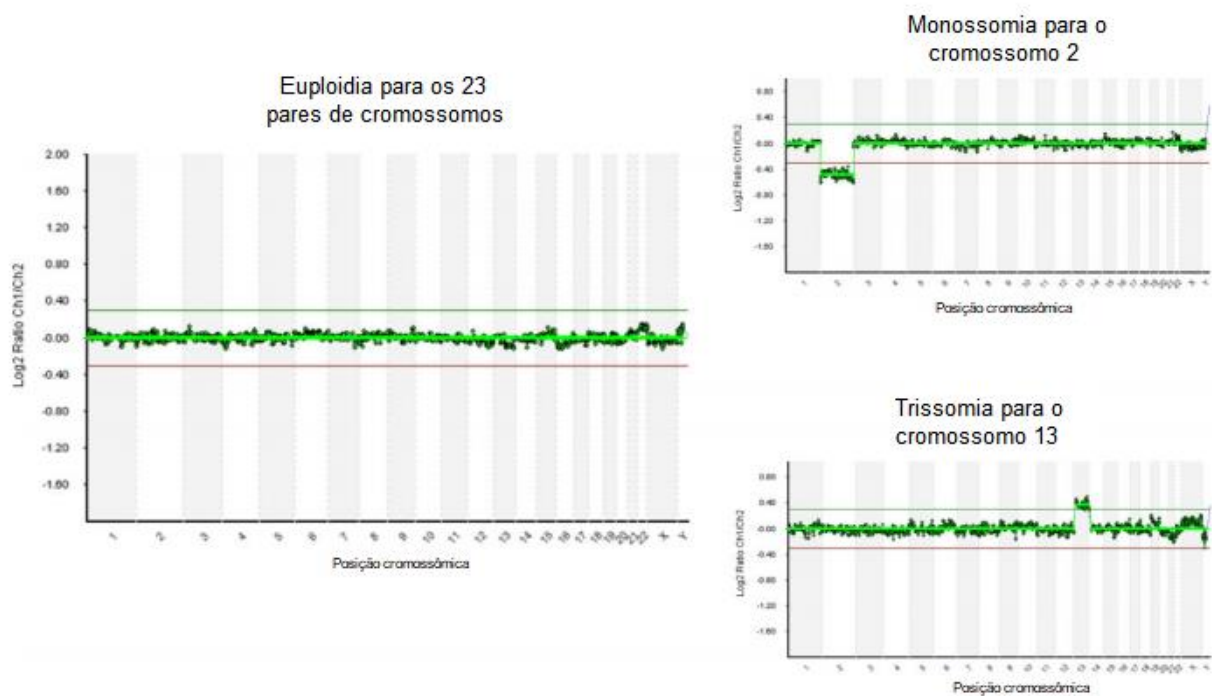
Fonte: Adaptado de MOAYERI et al., 2016

3.2.3 Hibridização Genômica Comparativa - aCGH

A técnica de hibridização genômica comparativa (comparative genomic hybridization – CGC) permite a análise completa dos 23 pares de cromossomos, enquanto a técnica de FISH se respalda na avaliação de uma pequena região. Desta forma, é capaz de reconhecer perdas e ganhos no material genético sem um conhecimento prévio da região por uma amplificação genômica completa (WGA), permitindo rastrear com precisão as aneuploidias cromossômicas. Trata-se de uma forma de rastreamento realizada pela hibridização com marcadores fluorescentes (MAJUMDAR et al., 2016).

A hibridização genômica com células em metáfase (mCHG) é uma técnica demorada, durando aproximadamente 72 horas. O método utiliza um *software* para analisar a razão da fluorescência resultante da hibridização. Sendo interpretada pela razão vermelho-verde do comprimento gênico metafásico analisado, onde ganhos em vermelho indica amostra incompleta na região ou cromossomo e ganhos em verde apontam cópias extras (Figura 4). Essa técnica é muito empregada no diagnóstico de aneuploidias que acometem o cromossomo como um todo e desequilíbrios cromossômicos originados de rearranjos (LIÑÁN et al., 2018).

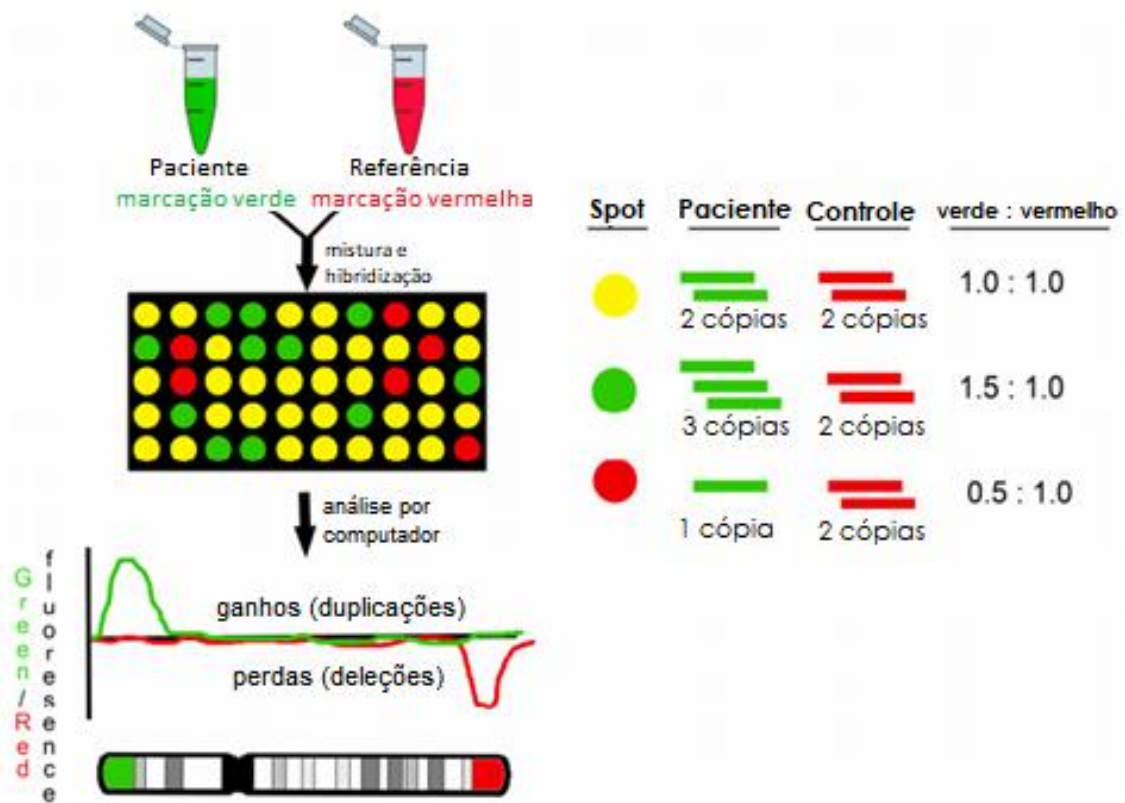
Figura 4. Leitura das matrizes de Hibridização Genômica Comparativa (aCGH) de amostras diferentes. A imagem da esquerda representa diploidia dos 23 pares cromossômicos, uma vez que é identificada uma proporção verde/vermelho semelhante nos resultados de todos os cromossomos. Na imagem superior direita é possível identificar a monossomia do cromossomo 2, pelo resultado com desvio descendente para este cromossomo, em razão da baixa emissão da fluorescência, o que caracteriza a sua deleção. Na imagem inferior direita, a intensidade de fluorescência foi maior na posição do cromossomo 13, desta forma o desvio ascendente caracteriza a trissomia deste cromossomo.



Fonte: Adaptado de BREZINA et al., 2016.

Com a introdução da hibridização genômica comparativa com arrays (aCHG) a técnica se tornou mais rápida, uma vez que se torna totalmente automatizada utilizando o mesmo princípio do mCHG, obtendo os mesmos resultados, porém em um período de tempo menor. Esse método utiliza geralmente fragmentos cromossômicos artificiais bacterianos (BACs), cromossomos artificiais (PAC-P1), oligonucleotídeos sintéticos ou fragmentos de PCR já pré-selecionados e fixados na lâmina que correspondem especificamente a um cromossomo em particular (Figura 5) permitindo, assim, que o software consiga fazer a leitura e analisar a razão de fluorescência consequente a hibridização semelhante a mCHG e permita a transferência embrionária em um mesmo ciclo (LEE et al., 2019).

Figura 5. Esquema Hibridização Genômica Comparativa (aCGH). A partir da competição pela hibridização do DNA do paciente com o DNA controle, previamente marcados com seus respectivos corantes, é possível que o software analise perdas ou ganhos cromossômicos da região analisada. Desta forma, a emissão do sinal é obtida a partir da intensidade de fluorescência onde ganhos em amarelo significam a normalidade cromossômica, ganhos em verde significam duplicação do material e ganhos em vermelho, deleção do material.



Fonte: Adaptado de KARAMPETSOU; MORROGH; CHITTY, 2014.

A técnica convencional de diagnóstico citogenético é indicada primeiramente para a realização do cariótipo, todavia o nível de resolução desta técnica não detecta anomalias em fragmentos menores que 5 Mb. Deste modo a aCGH apresenta vantagens por ser aplicável na detecção de números de cópias variantes (CNV – copy number variations) em resoluções tão baixas como 1Kb. Além de não ser necessária a realização de cultura celular e não possuir limitações referentes a origem celular com capacidade de análise de diversas regiões (PRATTE-SANTOS et al., 2016).

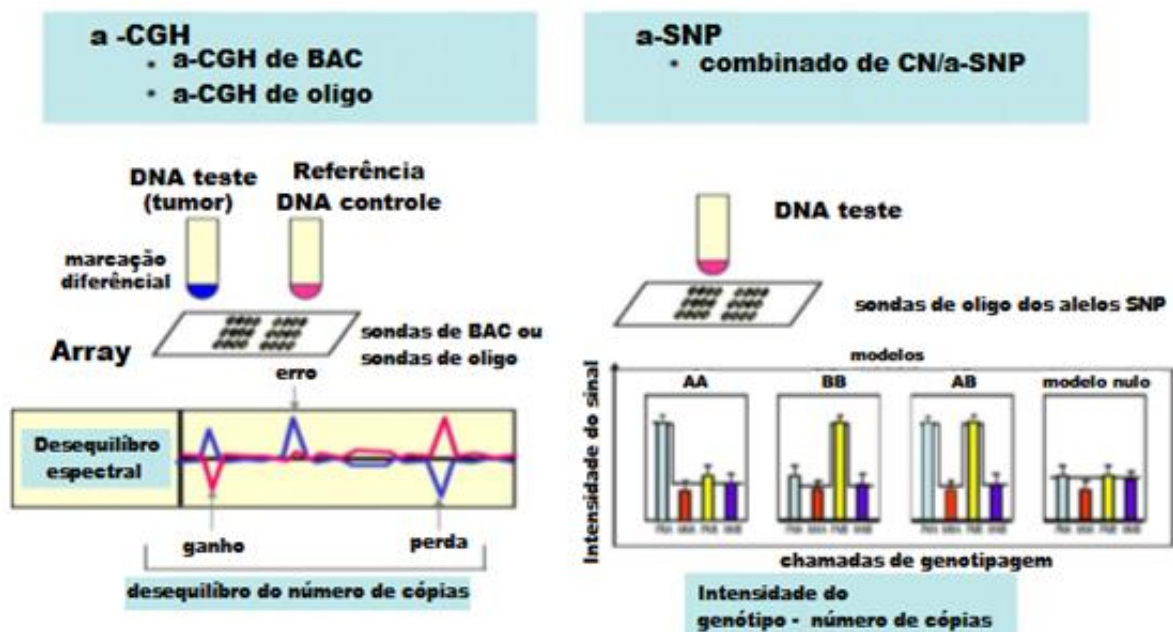
3.2.4 SNP array com Apoio Parental - a-SNP-APa

Define-se polimorfismo de nucleotídeos como pequenas variações genéticas na sequência de um alelo, em um *locus* específico, sendo diferente da sequência dos outros

presentes na população. Essa variação é importante na identificação humana. Logo, o polimorfismo de nucleotídeo único (SNP) é a forma mais corriqueira de variação genética que afeta apenas uma base na sequência genética devendo ocorrer com frequência $>1\%$ na população (MATSUDA, 2017).

Com algumas diferenças em relação à técnica de a-CGH, a metodologia de a-SNP amplifica e hibridiza na placa de *array* somente o DNA teste, não sendo necessário a competição com o DNA controle, como ocorre no a-CGH (Figura 6). A identificação da homozigose ou heterozigose é possível uma vez que na plataforma do *array* contém as sondas dos alelos de cada locus, representados na lâmina pelas letras A e B. Logo, os resultados como AA, AB e BB simbolizam indivíduos normais para determinado alelo (RAVI et al., 2018).

Figura 6. Comparação entre as técnicas de a-CGH e a-SNP.

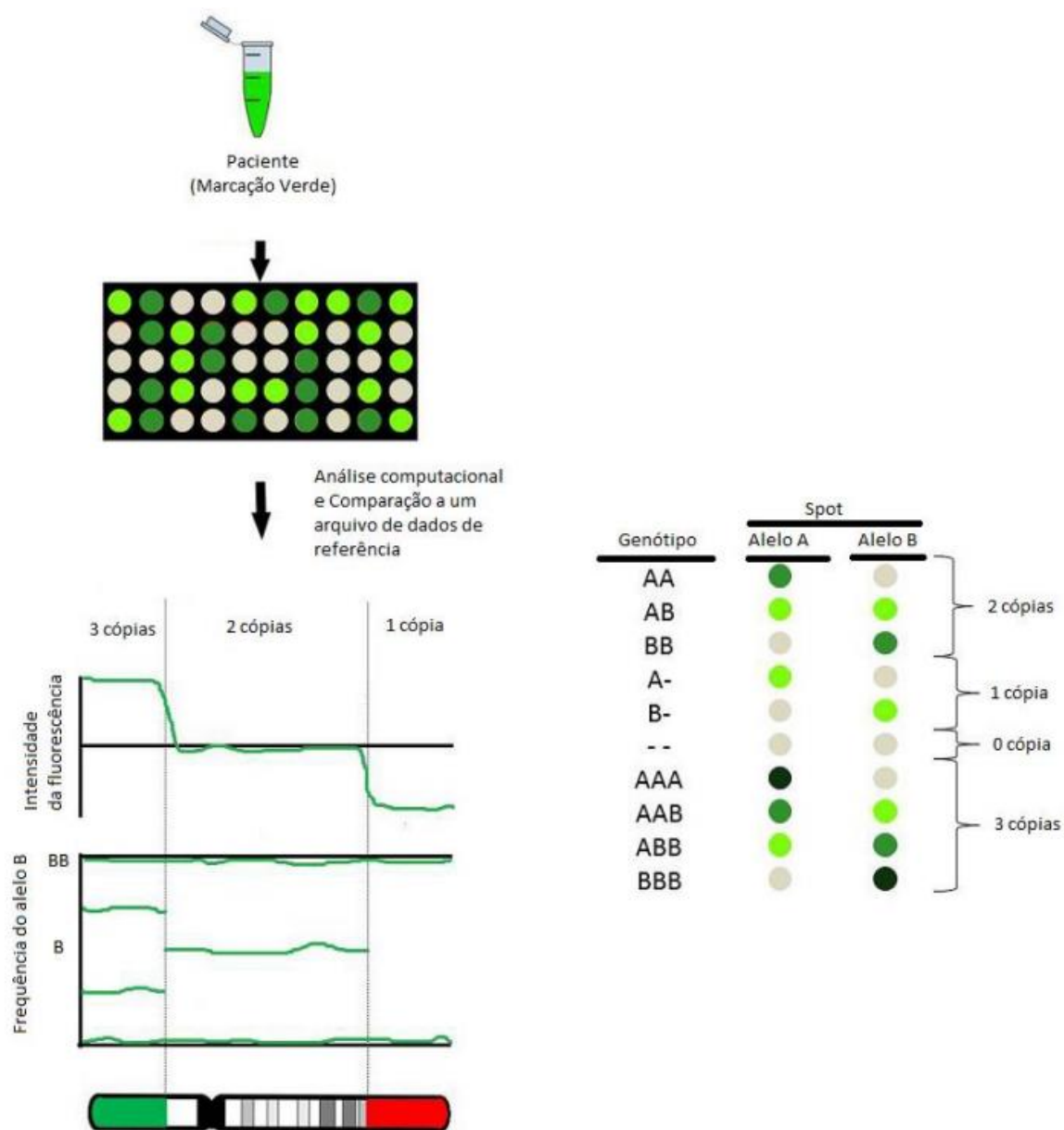


Fonte: Adaptado de ROSA, 2015.

Portanto, a técnica se baseia na hibridização do DNA simples do paciente, marcado com fluorocromo às sondas únicas de SNPs presentes. O sinal produzido a partir da hibridização é captado pelo aparelho, que faz a leitura da lâmina e calcula, de acordo com a intensidade obtida, o número de cópias (Figura 7). Após refletir o conteúdo da amostra analisada e a quantidade de cópias para cada *locus*, é feito, por comparação, a simulação da localização de cada sonda no comprimento cromossômico. Com a associação da análise parental, essa metodologia

possibilita identificar a origem da perda ou ganho de alelo ou, até mesmo, se é uma mutação “*de novo*” (SUEOKA, 2016).

Figura 7. Esquema SNP array com Apoio Parental – a-SNP-APa.



Fonte: Adaptado de KARAMPETSOU; MORROGH; CHITTY, 2014.

Devido a introdução de inúmeras novas sondas de SNPs, essa metodologia começou a ser utilizada não só na genotipagem e na detecção de mutações desequilibradas, como também na determinação de origem parental e na determinação de mosaicismo, entre outros. O método de a-SNP-APa, provindo dos tratamentos de reprodução assistida, permite a identificação de polimorfismos no embrião. A partir dos materiais dos pais biológicos, sangue ou saliva, a

técnica analisa e compara os resultados obtidos do diagnóstico do embrião. Assim essa relação ajuda na identificação de erros das investigações advindos das técnicas anteriormente citadas. Além de proporcionar a identificação da origem do erro, podendo ser tanto materno quanto paterno (HAO et al., 2019).

3.2.5 Next generation sequencing - NGS

Com a evolução das tecnologias de sequenciamento genético, as técnicas de sequenciamento de próxima geração (NGS) associada às plataformas tecnológicas e análise de bioinformática, surgiu para avaliar e sequenciar pequenos fragmentos de DNA em paralelo, permitindo assim um sequenciamento mais rápido, com alto rendimento e a custos menores comparados a técnica de Sanger, por exemplo, método clássico de sequenciamento. A técnica de Sanger se baseia na adição de didesoxirribonucleotídeos (ddNTPs) pelo processo de replicação com a ação da enzima DNA polimerase a partir do anelamento dos fragmentos. Utilizado atualmente como rotina para validação do NGS (SOLER, 2017).

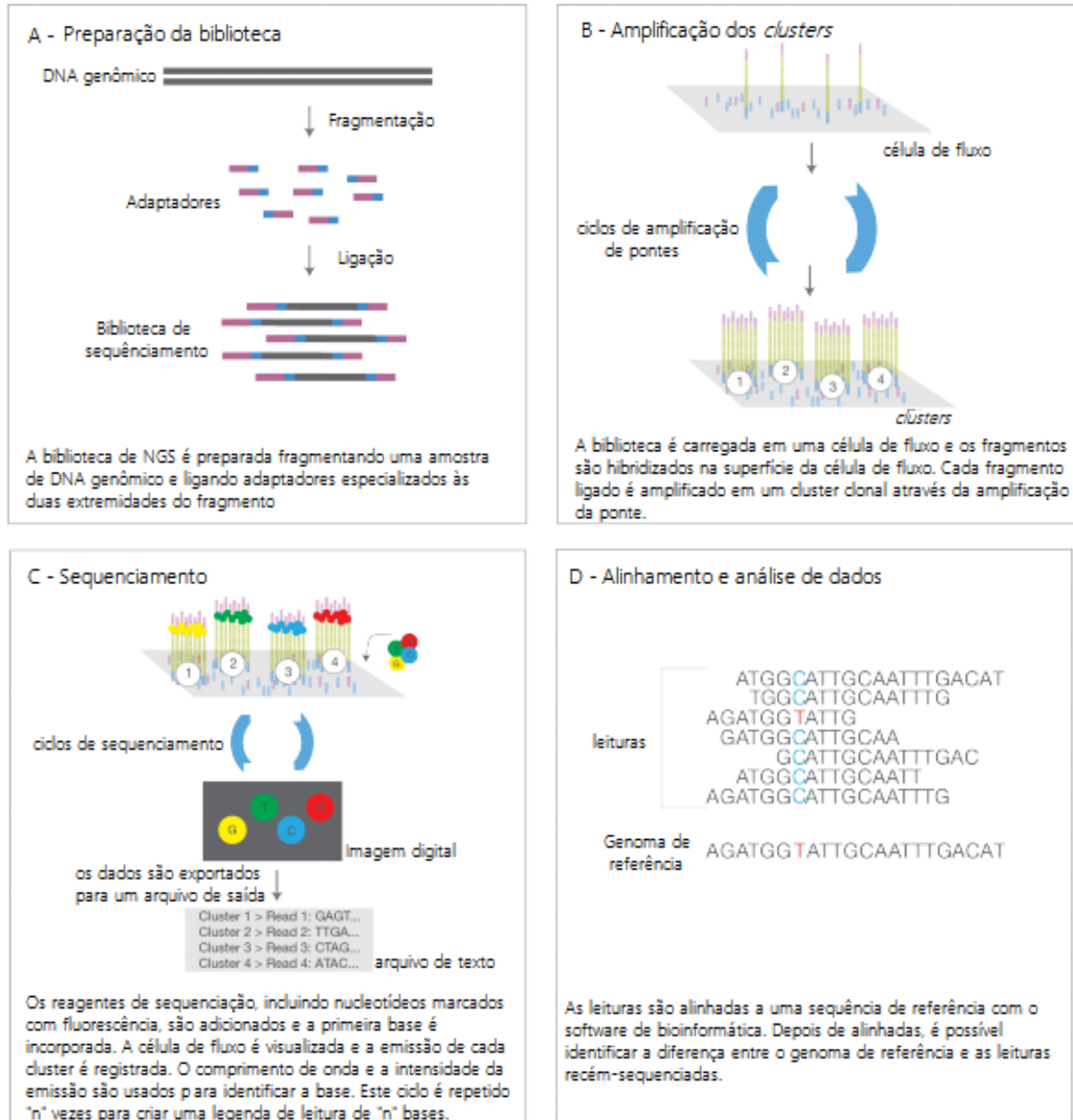
Diferentemente do método de Sanger, o NGS sequencia uma quantidade maior de um fragmento de determinados genes e de genes relacionados simultaneamente em uma mesma reação, além de proporcionar “leituras curtas”. Sendo clinicamente utilizado em casos de doenças mais complexas e de alta herdabilidade, sendo necessário estabelecer o sequenciamento completo (CARVALHO, 2016).

O progresso das variáveis plataformas de sequenciamento de nova geração facilitou os estudos genéticos, o que cooperou bastante para um maior conhecimento sobre o genoma. Como exemplo de plataforma de NGS, atualmente, a série da Illumina vem ganhando como a plataforma mais utilizada nos últimos cinco anos. Após a preparação da biblioteca é feita a fragmentação do DNA para, posteriormente, os resultados da fragmentação serem ligados aos adaptadores em suas extremidades. Esses adaptadores, proporcionam a fixação por pareamento dos fragmentos de DNA com a lâmina do *array*, para que então possa ser feita a amplificação dessas frações de material genético. Esse processo, origina os clusters, que são os fragmentos de fita simples utilizados como *templates* pela DNA polimerase para a realização do sequenciamento, o qual é realizado em ciclos. Em cada ciclo do processo de sequenciamento é adicionado uma base específica acoplada a um fluoróforo, que emitira um sinal a partir de seus pareamentos para que então seja possível a captação pelo o aparelho (Figura 8) (ZHU et al., 2018).

Desta forma, a indicação para o uso desse método abrange os casos em que o sequenciamento de um único gene não fornece informações importantes e completas para o

diagnóstico do paciente, já que a patologia pode ser obtida de genes diferentes ou ainda de genes desconhecidos, ainda não identificados (CASTRO et al., 2019).

Figura 8. Etapas de realização da técnica de NGS.



Fonte: Adaptado de ILLUMINA, 2015.

3.2.6 Comparativo entre as técnicas utilizadas no diagnóstico genético pré-implantacional

É importante para um melhor tratamento e obtenção de resultados adequados, o estudo e conhecimento de cada técnica, assim como suas vantagens e desvantagens (Tabela 1). A

escolha da metodologia para determinado diagnóstico é de extrema importância, já que diferentes tipos de abordagem são disponíveis. Essa escolha pode variar de acordo com a clínica e o histórico do paciente, mas deve sempre visar uma boa resposta do procedimento (BARCELLOS, 2017).

Tabela 1. Comparativo das vantagens e desvantagens das técnicas utilizadas no diagnóstico genético pré-implantacional.

Técnica	Vantagens	Desvantagens
qPCR	<ul style="list-style-type: none"> - Técnica rápida, segura e versátil; - Utiliza quantidade reduzida de DNA; - Quantificação do material genético de maneira precisa; - Alta especificidade e sensibilidade; - Detecta aneuploidias comuns e contaminação materna. 	<ul style="list-style-type: none"> - Necessita de conhecimento prévio da sequência; - Não identifica alterações equilibradas; - Não detecta rearranjos fora das localizações dos STRs.
FISH	<ul style="list-style-type: none"> - Rápida e segura detecção de aneuploidias; - Detecção >80kb; - Possível análise em células interfásicas; - Possibilita visualização de sequências específicas. 	<ul style="list-style-type: none"> - Capacidade de diagnóstico limitada; - Alto preço dos painéis de sonda.
a-CGH	<ul style="list-style-type: none"> - Capaz de investigar muitas regiões em uma única análise, sem necessidade de cultura celular; - Possível análise em diferentes tipos de tecidos; - Alta resolução; - Análise genômica; - Detecção de deleções e microdeleções. 	<ul style="list-style-type: none"> - Não detecta arranjos balanceados; - Dificuldade de detectar mosaicismos baixos.
a-SNP	<ul style="list-style-type: none"> - Mais sensível para detecção de mosaicismo; - Capaz de identificar regiões de homozigose no genoma; - Permite identificar origem da herdabilidade. 	<ul style="list-style-type: none"> - Não detecta arranjos balanceados.
NGS	<ul style="list-style-type: none"> - Rápida, versátil e baixo custo; - Construção in vitro de biblioteca genômica sem amplificação de fragmentos de DNA e sem clonagem; - Alta sensibilidade analítica. - Capaz de identificar e quantificar mosaicismo 	<ul style="list-style-type: none"> - Problemas de regiões com extremo de conteúdo CG (CG%) - Illumina.

Fonte: Adaptado de LINHARES; SVARTVAM; VALADARES, 2012; BARCELLOS, 2017; MOOG et al., 2020.

3.3 DOENÇAS E SÍNDROMES DIAGNOSTICÁVEIS PELO DIAGNÓSTICO GENÉTICO PRÉ-IMPLANTACIONAL (DGPI)

Com bases nas indicações para o tratamento de DGPI, existem inúmeras doenças que esse método é capaz de diagnosticar. Desta forma, é utilizado para diagnosticar tanto as alterações do cariótipo estruturais, como alterações numéricas. Desta forma o principal objetivo diagnóstico é de prevenir as doenças genéticas a partir da seleção embrionária, visando aumentar as taxas de sucesso dos tratamentos de FIV ou ICSI. Além do mais, pode ter aplicabilidade na transfusão de HLA (CAPALBO et al., 2016).

O diagnóstico genético está ao dispor de várias anomalias monogênicas, que podem ser de carácter autossômico recessivo, autossômico dominante ou ligado ao X. As anomalias estruturais divididas em balanceadas e desbalanceadas acometem a morfologia do cromossomo, podendo ser ocasionada por diversos fatores, como por exemplo erros na meiose. Assim as deleções, translocações, duplicações, inversões são exemplos de anomalias estruturais e suas patologias são diagnosticáveis pelo PGT-M. Nas condições em que os embriões apresentam seus cromossomos desbalanceados, já que tem sua quantidade de material genético diminuído ou aumentado, a fixação uterina e o seu desenvolvimento podem ser prejudicados. Diferentemente das balanceadas que não modificam a quantidade do material genético e que é possível a identificação (FONSECA, 2017).

Já as anomalias numéricas estão divididas em euploidias, onde o cariótipo como um todo é alterado numericamente e que na maioria das vezes não compatível com a vida, e em aneuploidias, onde apenas um ou mais cromossomos sofrem perda ou ganho. Podendo levar também a abortamentos. As síndromes numéricas aneuploides são diagnosticadas pelo PGT-A, exemplificadas pela síndrome de Down, Síndrome de Klinefelter, Síndrome de Edwards e Síndrome de Turner (MARQUI, 2018).

Desta forma, as mutações genéticas podem tanto levar a incompatibilidade a vida, quanto ser causa de infertilidade. Podem também fazer com que o embrião tenha seu desenvolvimento comprometido. E assim, são muitas as doenças de possível diagnóstico por meio do diagnóstico genético pré-implantacional, sendo algumas delas indicadas no Apêndice.

3.4 TÉCNICAS DE REPRODUÇÃO ASSISTIDA

A partir do desenvolvimento das técnicas de reprodução assistida (RA), foi possível aumentar o conhecimento e manipulação genética por meio do diagnóstico genético. A RA une técnicas que substituem a forma natural de reprodução, de modo que, a aplicabilidade de determinada metodologia varia de acordo com a necessidade e seriedade do caso. A escolha por essa vem aumentando, não só por razões fisiológicas, como também social ou pessoal. Assim, proporciona condições favoráveis para essas pessoas de poderem construir suas famílias e auxiliar nos problemas de fertilidade tanto feminina quanto masculina (MATIAS, 2018).

São várias as metodologias, desde as mais simples até as mais complexas. Os tratamentos classificados como intracorpóreos, são os de menor complexidade. Habitualmente usadas em casos de endometriose leve, fatores funcionais ou anatômicos, entre outros; baseiam-se na possibilidade de que a fecundação aconteça ainda *in vivo*, ou seja, ocorre no próprio organismo feminino. Exemplificado pela estimulação ovariana, inseminação intrauterina (IIU) e o coito programado (DUARTE-FILHO et al., 2019).

A estimulação ovariana antecede a maioria dos procedimentos de reprodução assistida, tanto somente para acompanhamento do desenvolvimento folicular como, em procedimentos mais invasivos, para a evolução dessas técnicas. Objetiva compensar disfunções hormonais para que seja garantida uma quantidade maior de folículos em desenvolvimento disponíveis (NÓBREGA, 2018).

Após o acompanhamento folicular e a análise do líquido seminal, a técnica de inseminação intrauterina restringe-se na inserção desses espermatozoides no interior da vagina por meio de um cateter. Desta forma, somente a manipulação da amostra masculina é feita laboratorialmente. Classificado como um procedimento simples, é comumente associado a estímulos ovarianos para assim aumentar suas chances de sucesso (SOUZA et al., 2017).

Também, a partir do processo de estimulação, o coito programado tem como objetivo planejar e calcular o ciclo ovariano, quantificando os folículos qualificados para concepção disponíveis. Desta forma possibilita estimar o provável momento em que a ovulação ocorrerá, para que assim, possa se definir a melhor época para o casal se relacionar da maneira natural (GONTIJO, 2016).

Para a realização da inseminação intrauterina é necessário que a paciente não apresente comprometimento de pelo menos uma das tubas de falópio e que o espermograma não apresente alterações significantes. Já que o processo se resume no posicionamento do sêmen dentro do útero, o sêmen é processado anteriormente em laboratório com o objetivo de selecionar os

espermatozoides de acordo com sua morfologia e motilidade e concentrá-los em um menor volume. Desse modo, a fecundação ocorre dentro do corpo da mulher, e possui da mesma forma acompanhamento do ciclo menstrual (SOLINHO, 2018).

A fertilização *in vitro* (FIV) e a injeção intracitoplasmática de espermatozoides (ICIS), são exemplos de reprodução assistida extracorpórea, indicadas para pacientes com patologias mais severas e irreversíveis. Essas possuem grau de dificuldade maior por dispor de etapas que necessitam do uso de anestesia local e que os óvulos coletados são manipulados fora do corpo da mulher, sendo assim, são procedimentos *in vitro*. Além da sua complexidade nos estágios de aplicação, muitas vezes é necessário a influência de métodos que auxiliam seu êxito, como mais uma vez o uso de hormônios externos (PINI, 2016).

Ademais, a análise da infertilidade feminina e qualidade seminal são relevantes para estabelecer uma ideia do sucesso do procedimento. Assim como a idade materna e sua reserva ovariana, fatores fundamentais para oportunidade de uma gravidez pelos tratamentos de reprodução assistida. Conforme esses fatores, a probabilidade de sucesso é consideravelmente alta, tanto para FIV ou ICSI, podendo variar de acordo com a clínica dos pacientes. Desta forma, a taxa de sucesso referentes a essas técnicas variam de 25% a 50% por tentativa, podendo apresentar após de três tentativas uma taxa acumulativa de 70% (HEUSCHKEL, 2015).

Apesar de que essas técnicas apresentam vantagens, como todas as outras, sendo o tratamento feito para contornar a infertilidade de casais levando ao nascimento de uma criança o mais significativo. Além de proporcionar o diagnóstico genético, diminuindo as chances de herdabilidade de alguma anomalia genética. As técnicas de reprodução assistida também apresentam desvantagens como preço elevado, respostas a terapia hormonal de estimulação e descarga emocional. Uma vez que existe a possibilidade de repetição do tratamento, e consequentemente o uso frequente de medicamentos hormonais que podem trazer problemas a saúde e bem-estar da mulher, como por exemplo, na glândula tireoide (TAO et al., 2017).

Logo, a avaliação da origem de infertilidade é de extrema importância para que se tenha a melhor indicação técnica. Uma vez que a infertilidade atinge tanto mulheres como homens por diversos fatores. Desta forma, o aconselhamento genético, realizado pelo grupo médico responsável, para o mapeamento das condições genéticas e, para então calcular a probabilidade de ocorrência e a analisar a melhor abordagem para cada caso. Além disso, atua como apoio psicológico para os pacientes que procuram esse tipo de tratamento (HARPER et al., 2018).

3.4.1 Estimulação ovariana

De forma importante para a realização dos procedimentos de reprodução assistida e, por conseguinte, do diagnóstico genético, a estimulação ovariana está associada a essas técnicas com o objetivo de aumentar as chances de sucesso, tanto para os procedimentos mais simples quanto para os mais complexos, principalmente nas técnicas como FIV e ISCI, impactando nos resultados finais (LABARTA et al., 2017).

A hipófise necessita de estímulo para a produção e excreção de hormônios fundamentais para o ciclo reprodutivo. Esse estímulo depende da sua frequência de estimulação. O ciclo menstrual tem duração de aproximadamente 28 dias e é dividido em fase folicular e fase lútea, que apresenta influências hormonais para que cada fase ocorra regularmente. O hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) é produzido pelo hipotálamo atuando na adenohipófise para que sejam produzidos o hormônio luteinizante (LH) e o hormônio folículo estimulante (FSH) (KAMI et al., 2017).

Os hormônios produzidos a partir do GnRH sofrem *feedback* negativo dos hormônios ovarianos. Onde, a partir do estímulo do FSH, se tem a maturação dos folículos e assim a produção de estrógeno por estes, o qual proporciona o desenvolvimento do endométrio na medida em que crescem. Uma vez que os folículos produzem estrógeno os níveis de FSH caem. Dessa forma, com a queda do FSH se tem a liberação de LH e assim, quando este hormônio atinge seu pico promove a ovulação (MASSIN, 2017).

Os fármacos mais utilizados nas escolhas de terapia atualmente são as gonadotrofinas, citrato de clomifeno e inibidores de aromatase. Consequentemente, a análise dos fatores de risco, taxas de sucesso, custo e estilo de vida deve ser levado em consideração na escolha do tratamento. Desta forma, o uso das gonadotrofinas exógenas é usualmente empregado à uma combinação com agonista ou antagonista de GnRH. Uma vez que o uso de FSH isolado pode levar a elevação prematura dos níveis de LH na fase folicular e prejudicar a maturação ovariana, o uso da combinação das gonadotrofinas exógenas com agonistas de GnRH para suprimir a hipófise depois de uma elevada dose inicial endógena de LH e FSH, conhecida como *flare-up*, impede a secreção de LH durante o procedimento. Já a combinação com antagonista de GnRH tem ação imediata na hipófise, que resulta em um rápido bloqueio já que impede a ligação com o GnRH. Como requer um acompanhamento mais rigoroso e carregam um perigo maior de gravidez múltipla, quando comparada as técnicas seguintes, seu uso é indicado em casos em que as outras opções não surtiram efeito (ALPER; FAUSER, 2017).

Como um bloqueador do efeito de feedback negativo, o citrato de clomifeno compete com os hormônios endógenos para seu respectivo receptor hipotalâmico. A ligação aos

receptores estrogênicos gera uma falsa informação fazendo com que os níveis de estrogênio endógeno diminuam, e assim faz com que os níveis de FSH e LH aumentem. Desta forma a utilização do citrato de clomifeno não altera a função tireoidiana ou suprarrenal, uma vez que não tem ação progestacional ou androgênica, manifestando aspectos parecidos ao mecanismo natural (MARCONI et al., 2016)

Outra opção são os inibidores de aromatase, como o letrozol, utilizado no tratamento de câncer de mama, já que é relacionado com o estímulo estrogênico. Assim, esse fármaco reduz o nível de estrógeno agindo seletivamente na enzima que aromatase que está presente na produção desse hormônio. Portanto com a produção estrogênica suprimida pelo bloqueio enzimático, a hipófise é estimulada por conta da diminuição do *feedback* negativo, a liberar o hormônio folículo estimulante, levando ao desenvolvimento folicular. Além disso, o medicamento resguarda a fertilidade dessas pacientes que apresentam a neoplasia mamária (MEJIA, 2019).

Sendo assim, esse tratamento tem por finalidade o acompanhamento do desenvolvimento e da maturação dos folículos ovarianos, por meio da ultrassonografia. A partir da utilização de hormônios exógenos que atuam no ovário para estimular o desenvolvimento de múltiplos folículos ovarianos qualificados e assim aumentar as chances de concepção por conta da maior quantidade de óvulos adquiridos (BECHTEJEW, 2018).

3.4.2 Fertilização *in vitro* (FIV) e injeção intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI)

O diagnóstico genético pré-implantacional está relacionado às técnicas de reprodução assistida, mas sua aplicação é especialmente presente nos procedimentos de FIV e ICSI. Desta forma, após o estímulo hormonal e a assistência da ultrassonografia transvaginal é possível fazer a coleta do material que será utilizado no tratamento. A técnica de FIV convencional é indicada para pacientes que por cerca de um ano não apresentam sucesso nas tentativas de engravidar tanto pela concepção natural, quanto na utilização de tratamentos mais simples como o coito programado, por exemplo. Baseia-se na junção do óvulo e do espermatozoide em meio laboratorial que formará um pré-embrião. Logo, seu processo de fertilização ocorrerá fora do organismo materno (NOGUEIRA, 2016).

A fertilização ocorre em meio de cultura, onde o óvulo é rodeado de espermatozoides na placa. Os embriões obtidos da fertilização ficam em observação na incubadora, assim é possível observar seu desenvolvimento e classificar conforme sua morfologia e divisão se determinado embrião é viável ou inviável para transferência embrionária. A metodologia tem

indicação para mulheres com endometriose, anormalidade nas trompas, baixa reserva de óvulos, idade avançada e complicações brandas de infertilidade masculina (VIEIRA et al., 2018).

Já em casos de distúrbios severos de infertilidade masculina, alteração seminal grave ou múltiplos fracassos nas técnicas de FIV e IIU, a técnica de ICSI é a técnica mais indicada, onde o procedimento se fundamenta na introdução de um único espermatozoide, anteriormente selecionado paralelamente a escolha do óvulo já puncionado. Assim, é feita a introdução do espermatozoide dentro do óvulo por meio da injeção intracitoplasmática. À medida que o pré-embrião fica em observação, para aumentar a possibilidade de sucesso na implantação, pode ser feita a análise genética embrionária pelo procedimento de *Screening* Genético Pré-Implantacional a partir da aspiração de algumas células do embrião e garantir até mesmo a saúde do feto (LEE et al., 2017).

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Devido aos avanços nas técnicas de biotecnologia e de reprodução humana assistida, é possível que haja planejamento e concepção do embrião manipulado laboratorialmente. O tratamento de reprodução assistida, acompanhado da análise genética, pelas técnicas de biologia molecular, que fazem parte do DGPI, possibilitam a transferência selecionada de embriões livres de dada anomalia, desde patologias cromossômicas e numéricas à compatibilidade para transplante medular, bem como tratamentos da fertilidade.

O diagnóstico genético pré-implantacional proporciona a identificação de certas alterações que inviabilizam a vida fetal. Ele é significantemente importante para o aumento das taxas de sucesso na concepção dos embriões transferidos decorrente do tratamento de reprodução assistida.

É conhecido que algumas mutações no genoma proporcionam condições desfavoráveis para a saúde do bebê e para o sucesso da concepção sendo que, em ambas as hipóteses, podem acontecer abortamentos espontâneos e vir a ser necessário reiniciar o ciclo de tratamento de reprodução assistida.

Diante da pesquisa e dos estudos dos materiais acadêmicos selecionados, é possível identificar que as técnicas de diagnóstico genético pre-implantacional, como PCR, FISH, a-CGH, a-SNP e NGS, estão cada vez mais adaptadas às rotinas laboratoriais e consequentemente no sucesso desses tratamentos. A adaptabilidade e o progresso dessas metodologias permitem que esses protocolos abranjam cada vez mais aplicabilidades de diagnóstico.

Todavia, elas apresentam seus prós e contras e assim enfrentam obstáculos como o mosaicismos, evento mitótico muito relevante principalmente nos primeiros dias de divisão, uma vez que sua ocorrência prevalece na fase de blastômero. Desta forma, para melhor aplicabilidade das técnicas são necessários estudos e pesquisas com uma melhor abordagem para cada caso e, a partir do aconselhamento genético, decidir como proceder visando diminuir os casos falsos negativos de modo a aumentar as taxas de sucesso.

Sendo assim, as adaptações e o crescimento tecnológico vêm permitindo cada vez mais o melhor aproveitamento do tempo e a inovação no número de profissionais necessários na equipe para manuseio e realização das técnicas automatizadas. Desta forma, tais aperfeiçoamentos proporcionam melhor custo benefício e maior confiabilidade dos resultados. Por esses motivos, técnicas como o NGS podem principiar a aplicação do diagnóstico genético no sistema de saúde pública, já que se tornam mais rápidas e baratas, além de oferecer resultados mais certos.

Em relação à biópsia embrionária, existe também possibilidades diferentes de comportamento. De acordo com a maioria dos artigos revisados, mesmo que na fase de blastômero apresente maior chance de ocorrência de mosaicismos, esta é a estratégia de biópsia mais utilizada atualmente. Porém, tal fato não exclui a existência da aplicabilidade da biópsia em outras etapas de divisão celular, uma vez que também apresentam qualidades para o tratamento.

Com isso, é possível concluir que o diagnóstico genético pré-implantacional proporciona o aperfeiçoamento das técnicas de reprodução assistida. Já que este identifica previamente anomalias não compatíveis com a vida, reduzindo assim, a taxa de abortamento espontâneo. Além disso, previne a transmissão hereditária ou mutações *de novo* de distúrbios genéticos ou cromossômicos, sem que seja necessário a ocorrência de abortamento.

REFERÊNCIAS

ALPER, M. M.; FAUSER, B. C. Ovarian stimulation protocols for IVF: is more better than less? **Reproductive Biomedicine Online**, Amsterdã, v. 34, n. 4, p. 345-353, abr. 2017. DOI: 10.1016/j.rbmo.2017.01.010.

ARAUJO, J. P. M.; ARAUJO, C. H. M. Biodireito e legislação na reprodução assistida. **Medicina**, Ribeirão Preto, v. 51, n. 3, p. 217-235, nov. 2018. DOI:10.11606/issn.2176-7262.v51i3p217-235.

ASIF, A. et al. Fluorescence in Situ Hybridization (FISH) for Differential Diagnosis of Soft Tissue Sarcomas. **Asian Pacific journal of cancer prevention**, Tailândia, v. 19, n. 3, p. 655 – 660, mar. 2018. DOI: 10.22034/APJCP.2018.19.3.655.

ASPLUND, K. Use of in vitro fertilization—ethical issues. **UPSALA Journal of Medical Sciences**, Noruega, v. 125, n.2, p. 192-199, nov. 2019. DOI:10.1080/03009734.2019.1684405.

BARCELLOS, R. M. S. **A utilização da citogenética convencional e molecular na investigação de abortos espontâneos**. 2017. 20 f. Trabalho de conclusão de curso de bacharelado em Biomedicina no Centro Universitário de Brasília, Brasília, 2017. Disponível em: <https://repositorio.uniceub.br/jspui/bitstream/235/11672/1/21448218.pdf>. Acesso em: 11 de julho de 2020.

BECHTEJEW, T. N. **Clomifeno e letrozol para estimulação ovariana controlada em técnicas de reprodução assistida: revisão sistematizada e meta-análise**. 2018. 85f. Dissertação (Mestrado) em Ginecologia e Obstetrícia da Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2018. DOI:10.11606/D.17.2018.tde-26042018-141448.

BREZINA, P. R. et al. Preimplantation genetic testing for aneuploidy: what technology should you use and what are the differences? **Journal of assisted reproduction and genetics**, Netherlands, v. 33, n. 7, p. 823 – 832, jul. 2016. DOI: 10.1007/s10815-016-0740-2.

CAPALBO, A. et al. Implementing PGD/PGD-A in IVF clinics: considerations for the best laboratory approach and management. **Journal of assisted reproduction and genetics**, Nova Iorque, v. 33, n. 10, p. 1279 – 1286, out. 2016. DOI: 10.1007/s10815-016-0768-3.

CARDIN, V. S. G.; GUERRA, M. G. R. M. Do diagnóstico genético pré-implantacional para a seleção de embriões com fins terapêuticos: uma análise do bebê-medicamento. **RFD-Revista da Faculdade de Direito da UERJ**, Rio de Janeiro, v. 2019, n. 35, p. 60–77, jul. 2019. DOI: 10.12957/rfd.2019.22458.

CARVALHO, R. A. DE. **Avaliação do método de sequenciamento de nova geração no diagnóstico genético de neoplasia endócrina múltipla tipo 1**. 2016. 109 f. Dissertação de Mestrado - Universidade de São Paulo, (USP). Faculdade de Medicina São Paulo. 10 jan. 2016. DOI:10.11606/D.5.2017.tde-10012017-111320.

CASTRO, B. B. D. et al. Diagnose: um futuro campo de atuação em medicina. **Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research – BJSCR**, Cianorte, v. 26, n. 3, p.103-108, mai. 2019. Disponível em: https://www.mastereditora.com.br/periodico/20190508_174026.pdf. Acesso em: 10 de julho de 2020.

CFM (Conselho Federal de Medicina) **Resolução nº 2168**, de 10 de novembro de 2017. Regulamenta as normas éticas para a utilização das técnicas de reprodução assistida e revoga a Resolução nº 2121/2015. Brasília DF: Diário Oficial da União. Brasília, secção I, p. 73. DOI: 00012017111000073.

CHAO, X. et al. Outcomes of Preimplantation Genetic Diagnosis Cycles by Fluorescent In situ Hybridization of Infertile Males with Nonmosaic 47,XYY Syndrome. **Chinese medical journal**, Pequim, v. 131, n. 05, p. 1808-1812, ago. 2018. DOI: 10.4103/0366-6999.237393.

CHEN, H. F. et al. Preimplantation Genetic Diagnosis and Screening: Current Status and Future Challenges. **Journal of the Formosan Medical Association**, Singapura, v. 117, n. 2, p. 94 – 100, FEV. 2018. DOI: 10.1016/j.jfma.2017.08.006.

CIMADOMO, D. et al. The Impact of Biopsy on Human Embryo Developmental Potential During Preimplantation Genetic Diagnosis. **BioMed research international**, Estados Unidos, v. 2016, jan. 2016. DOI: 10.1155/2016/7193075.

CORREIA, A. N. **Diagnóstico Genético Pré-implantacional**. 2015. 35f. Monografia, Universidade Federal do Parana, 2015. Disponível em: <https://www.acervodigital.ufpr.br/bitstream/handle/1884/42267/R%20-%20E%20-%20AMANDA%20NARDI%20CORREIA.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 10 de julho de 2020.

DESTOUNI, A. et al. Single-cell high resolution melting analysis: A novel, generic, pre-implantation genetic diagnosis (PGD) method applied to cystic fibrosis (HRMA CF-PGD). **Journal of Cystic Fibrosis**, Amsterdã, v. 15, n. 2, p. 163 – 170, mar. 2016. DOI: 10.1016/j.jcf.2015.09.009.

DUARTE-FILHO, O. B.; et al. Assisted Reproductive Technologies in Latin America and Europe: a Comparative Analysis of Reported Databases for 2013. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, São Paulo, v. 41, n. 8, p. 493–499, ago, 2019. DOI: 10.1055/S-0039-1693680.

ESFANDIARI, N.; BUNNELL, M. E.; CASPER, R. F. Human embryo mosaicism: did we drop the ball on chromosomal testing? **Journal of assisted reproduction and genetics**, Nova Iorque, v. 33, n. 11, p. 1439 -1444, nov. 2016. DOI: 10.1007/s10815-016-0797-y
ESKEW, A. M., JUNGHEIM, E. S. A History of Developments to Improve in Vitro Fertilization. **Journal of the Missouri State Medical Association**, San Luis, v. 114, n. 3, p. 156 – 159, mai.-jun. 2017. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6140213/pdf/ms114_p0156.pdf. Acesso em: 10 de julho 2020.

FARQUHAR, C.; MARJORIBANKS, J. Assisted reproductive technology: an overview of Cochrane Reviews. **The Cochrane database of systematic reviews**, Oxford, v. 8, p. 1465-1858, ago. 2018. DOI: 10.1002/14651858.CD010537.pub5.

FONSECA, L. L. C. G. **Caracterização citogenética clássica e molecular (fish) em pacientes com suspeita clínica de síndrome de prader-willi**. 2017. 38 f. Trabalho de conclusão de curso de Biomedicina. IBMR-Laureate International Universities, 16 nov. 2017. Disponível em: <https://www.ibmr.br/files/tcc/caracterizacao-citogenetica-classica-e-molecular-fish-em-pacientes-com-suspeita-clinica-de-sindrome-de-prader-willi-leticia-lobes-cabral-guimaraes-da-fonseca.pdf>. Acesso em: 10 de julho de 2020.

GONTIJO, E. E. L. **Comparação do sucesso na produção e qualidade de embriões entre um laboratório convencional e um laboratório iso 5/7 e fatores relacionados a gravidez**. 2016. 121 f. Tese de doutorado – Universidade de Goiás, Faculdade de Medicina. Goiania, 2016. Disponível em: <https://repositorio.bc.ufg.br/tede/bitstream/tede/6217/5/Tese->

[%20%c3%89rica%20Eug%c3%aanio%20Louren%c3%a7o%20Gontijo%20-%202016.pdf](#). Acesso em: 10 de julho de 2020.

HABIZADEH, P. et al. Pre-implantation genetic diagnosis in an Iranian family with a novel mutation in MUT gene. **BMC Medical Genetics**, Reino Unido, v. 21, n. 1, p. 22, dez. 2020. DOI: 10.1186/s12881-020-0959-8.

HAO, Y. et al. Successful clinical application of pre-implantation genetic diagnosis for infantile neuroaxonal dystrophy. **Experimental and Therapeutic Medicine**, Athens, v.19, n. 2, p. 956-964, feb. 2019. DOI: 10.3892/etm.2019.8302.

HARPER, J. C. et al. Recent developments in genetics and medically assisted reproduction: from research to clinical applications. **European journal of human genetics**, Basiléia, v. 26, n. 01, p. 12 – 33, jan. 2018. DOI: 10.1038/s41431-017-0016-z.

HEUSCHKEL, M. A. **Aspectos epidemiológicos da reprodução humana assistida no Brasil**. 2015. 66 f. Trabalho de conclusão de curso de Biomedicina. Universidade Federal do Paraná, 8 jul. 2015. Acesso em: <https://acervodigital.ufpr.br/bitstream/handle/1884/40228/TCC%20Marina%20Augusto%20Heuschkel.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Disponível em: 10 de julho de 2020.

ILLUMINA (2015). **An Introduction to Next-Generation Sequencing Technology**. Disponível em: https://www.illumina.com/content/dam/illumina-marketing/documents/products/illumina_sequencing_introduction.pdf. Acesso em: 5 de junho de 2020.

KAMI, A. T. et al. Influência das fases do ciclo menstrual no desempenho funcional de mulheres jovens e saudáveis. **Revista Fisioterapia e Pesquisa**, São Paulo, v. 24, n. 4, p. 356-362, nov. 2017. DOI: 10.1590/1809-2950/16081424042017.

KARAMPETSOU, E; MORROGH, D; CHITTY, L. Microarray Technology for the Diagnosis of fetal chromosomal aberrations: which platform should we use? **Journal of clinical medicine**, v. 3, n. 2, p. 663-678, 2014. DOI: 10.3390/jcm3020663.

KURAHASHI, H. et al. Preimplantation genetic diagnosis/screening by comprehensive molecular testing. **Reproductive medicine and biology**, Tóquio, v. 15, n. 01, p. 13-19, jan. 2016. DOI: 10.1007/s12522-015-0216-6.

LABARTA, E. et al. A Higher Ovarian Response after Stimulation for IVF Is Related to a Higher Number of Euploid Embryos. **BioMed research international**, Nova Iorque, v. 2017, p. 1 – 8, mar. 2017. DOI: 10.1155/2017/5637923.

LAL, A. et al. Embryo Biopsy Can Offer More Information Than Just Ploid Status. **Frontier in Cell and Developmental Biology**, Suíça, v. 8, n. 78, p. 1 – 5, fev. 2020. DOI: 10.3389/fcell.2020.00078.

LEE, C-I., et al. Performance of preimplantation genetic testing for aneuploidy in IVF cycles for patients with advanced maternal age, repeat implantation failure, and idiopathic recurrent miscarriage. **Taiwanese Journal of Obstetrics & Gynecology**, Hong Kong, v. 58, n. 2, p. 239 – 243, mar. 2019. DOI: 10.1016/j.tjog.2019.01.013.

LEE, S. H., et al. Comparison of clinical outcomes between in vitro fertilization (IVF) and intracytoplasmic sperm injection (ICSI) in IVF-ICSI split insemination cycles. **Clinical and Experimental Reproductive Medicine**, Korea, v.44, n. 2, p.96-104, jun.2017. DOI: 10.5653/cerm.2017.44.2.96.

LEITE, T.H. Análise crítica sobre a evolução das normas éticas para a utilização das técnicas de reprodução assistida no Brasil. **Ciência & Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 24, n. 3, p. 917-928, mar. 2019. DOI:10.1590/1413-81232018243.30522016.

LINA, L. et al. Recent advances in preimplantation genetic diagnosis and screening. **Journal of assisted reproduction and genetics**, Netherlands, v. 33, n. 8, p. 1129 – 1134, set. 2016. DOI: 10.1007/s10815-016-0750-0.

LIÑÁN, A., et al. Clinical reassessment of human embryo ploidy status between cleavage and blastocyst stage by Next Generation Sequencing. **PLoS ONE**, São Francisco, v. 13, n. 8, p. 1 – 13, ago. 2018. DOI: 10.1371/journal.pone.0201652.

LINHARES, N. D.; SVARTVAM, M.; VALADARES, E. R. Diagnóstico citogenético de pacientes com retardo mental idiopático. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**. Rio de Janeiro, v. 38, n.1, p. 33-39, fev. 2012. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/jbpml/v48n1/a07v48n1.pdf>. Acesso em: 8 de julho de 2020.

LISS, J. et al. Current methods for preimplantation genetic diagnosis. **Ginekologia Polska Via Médica**, Poznań, v. 87, n. 7, p. 522–526, 2016. DOI: 10.5603/GP.2016.0037.

LOPEZ-RIOJA, MJ et al. Estudio genético preimplantación para aneuploidias: resultados de la transición entre diferentes tecnologías. **Ginecología y obstetría de México**, México, v. 86, n. 2, p. 96-107, fev. 2018. DOI: 10.24245/gom.v86i2.1634.

LUO, H. et al. Preimplantation genetic testing for a Family with usher syndrome through targeted sequencing and haplotype analysis. **BMC Medical Genomics**, Inglaterra, v. 12, n. 157, p. 1-8, 2019. DOI: 10.1186/s12920-019-0600-x.

MAGALHÃES, J.S.B. **A importância do diagnóstico pré-implantacional em embriões para fertilização in vitro**. 2016. 37 f. Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso) Curso de Biomedicina, Americana, 2016. Disponível em: <http://aplicacao.vestibularfam.com.br:881/pergamumweb/vinculos/000001/000001c5.pdf>. Acesso em: 10 de julho de 2020.

MAJUMDA, G., et al. Preimplantation genetic screening for all 24 chromosomes by microarray comparative genomic hybridization significantly increases implantation rates and clinical pregnancy rates in patients undergoing in vitro fertilization with poor prognosis. **Journal of Human Reproductive Sciences**, Mumbai, v. 9, n. 2, p. 94 – 100, abr. – jun. 2016. doi: 10.4103/0974-1208.183512.

MARCONI, M.; et al. Clomiphene citrate treatment for late onset hypogonadism: rise and fall. **International Brazilian Journal of Urology**, Rio de Janeiro, v. 46, n. 6, p. 1190-1194, nov.-dez. 2016. DOI: 10.1590/s1677-5538.ibju.2016.0112.

MARQUI, A. B. T. Anormalidades cromossômicas em abortos recorrentes por análise de cariótipo convencional. **Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil**, Recife, v. 18, n. 2, p. 277-288, abr.-jun., 2018. DOI: 10.1590/1806-93042018000200002.

MASSIN, N. New stimulation regimens: endogenous and exogenous progesterone use to block the LH surge during ovarian stimulation for IVF. **Human Reproduction Update**, Inglaterra, v.23, n.2, p. 211–220, jan. 2017. DOI: doi: 10.1093/humupd/dmw047.

MATIAS, E. A. **Reprodução humana assistida e adoção infantil no brasil: uma análise das ações do estado na perspectiva da bioética crítica**. 2018. 138 f. Mestrado em Bioética - Universidade de Brasília Faculdade de Ciências da Saúde programa de pós-graduação em bioética, Brasília, 2018. Disponível em: https://repositorio.unb.br/bitstream/10482/33008/1/2018_EdinaldadeAra%c3%baJoMatias.pdf. Acesso em: 10 de julho de 2020.

MATSUDA, K. PCR-Based Detection Methods for Single-Nucleotide Polymorphism or Mutation: Real-Time PCR and Its Substantial Contribution Toward Technological Refinement. **Advances in Clinical Chemistry**, Nova Iorque, v.80, p. 45-72, jan. 2017. DOI: 10.1016/bs.acc.2016.11.002.

MEJIA, R. B.; et al. A randomized controlled trial of combination letrozole and clomiphene citrate or letrozole alone for ovulation induction in women with polycystic ovary syndrome. **Fertility and Sterility**, Nova Iorque, v. 111, n. 3, p. 571–578, mar. 2019. DOI:10.1016/j.fertnstert.2018.11.030.

MOAYERI, M. et al. The Effect of Preimplantation Genetic Screening on Implantation Rate in Women over 35 Years of Age. **Cell jornal**, Iran, v. 18, n. 01, p. 13 – 20, abr. 2016. DOI: 10.22074/cellj.2016.3982.

MOOG, U. et al. Disorders Caused by Genetic Mosaicism. **Deutsches Ärzteblatt international**, Colônia, v. 117, n. 8, p. 119-125, fev, 2020. DOI: 10.3238/arztebl.2020.0119.

NÓBREGA, B. N. **Avaliação da eficácia de uma estimulação ovariana controlada simplificada e de custo reduzido – um estudo piloto**. 2018. 62 f. Dissertação de Mestrado apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2018. Disponível em: <https://teses.usp.br/teses/disponiveis/17/17145/tde-15012019-102453/publico/BeatriceNutoNobrega.pdf>. Acesso em: 10 de julho de 2020.

NOGUEIRA, J. P. F. **Resultados das técnicas de reprodução medicamente assistida de segunda linha, FIV e ICSI, na Unidade de Medicina Reprodutiva do CHCB**. 2016. 47 f. Mestrado Integrado em Medicina - Universidade da Beira Interior, Portugal, 2016. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10400.6/5321>. Acesso em: 10 de julho de 2020.

NUNES, J. T. et al. Qualidade da assistência pré-natal no Brasil: revisão de artigos publicados de 2005 a 2015. **Caderno Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 24, n. 2, p. 252 – 261, 2016. DOI: 10.1590/1414-462X201600020171.

PALMEROLA, K. L. et al. Minimizing mosaicism: assessing the impact of fertilization method on rate of mosaicism after next-generation sequencing (NGS) preimplantation genetic

testing for aneuploidy (PGT-A). **Journal of assisted reproduction and genetics**, Netherlands, v. 36, n. 01, p. 153 -157, jan. 2019. DOI: 10.1007/s10815-018-1347-6.

PINI, R. B. **A reprodução assistida heteróloga: o direito do doador ao anonimato versus o direito da pessoa gerada à cognição da origem genética**. 2016. 49 f. Monografia - Universidade Federal Fluminense instituto de ciências humanas e sociais curso de direito, Rio de Janeiro, 2016. Disponível em: <https://app.uff.br/riuff/bitstream/1/6250/1/RAISA%20BEATRIZ%20PINI%20-%20A%20reprodu%C3%A7%C3%A3o%20assistida%20heter%C3%B3loga.pdf>. Acesso em: 20 de julho de 2020.

PIZZATO, B. R. et al. Revisão das técnicas de biologia molecular aplicadas no diagnóstico genético pré-implantacional e uma reflexão ética. **Reprodução & Climatério - Elsevier**, Curitiba, v. 32, n. 1, p. 7–14, jan. 2017. DOI: 10.1016/j.recli.2016.10.001.

PRATTE-SANTOS, R. et al. Analysis of chromosomal abnormalities by CGH-array in patients with dysmorphic and intellectual disability with normal karyotype. **Einstein**, São Paulo, v. 14, n. 1, p. 30–34, mar. 2016. DOI: 10.1590/S1679-45082016AO3592.

RAVI, H. et al. Validation of a SNP-based non-invasive prenatal test to detect the fetal 22q11.2 deletion in maternal plasma samples. **PLoS one**, São Francisco, v. 13, n. 02, p. 1 – 8, fev. 2018. DOI: 10.1371/journal.pone.0193476.

RIBEIRO, D. C. **Implicações jurídicas da reprodução humana assistida: o jurisprudencialismo como método na busca da correta decisão jurídica**. 2016. 156 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Direito do Sul de Minas. Pouso Alegre, 2016. Disponível em: <https://www.fdsu.edu.br/mestrado/arquivos/dissertacoes/2016/02.pdf>. Acesso em: 10 de julho de 2020.

RODRIGUES, V. O., et al. Genetics in human reproduction. **JBRA assisted reproduction**, Brasília, v. 0, n.0, p. 1 -12, jan. 2020. DOI: 10.5935/1518-0557.20200007.

ROSA, M. T. A. S. **Caracterização clínica de pacientes com deficiência intelectual síndrômica e alterações cromossômicas submicroscópicas detectadas pela análise cromossômica por microarray**. 2015. 102 f. Dissertação para Mestrado de Ciências Médicas – Universidade de Brasília, Brasília, 2015. Disponível em: https://repositorio.unb.br/bitstream/10482/18770/3/2015_MariaTeresaAlvesdaSilvaRosa.pdf. Acesso em: 10 de julho de 2020.

SATIRAPOD, C., et al. Clinical utility of combined preimplantation genetic testing methods in couples at risk of passing on beta thalassemia/hemoglobin E disease: A retrospective review from a single center. **PLoS ONE**, São Francisco, v. 14, n. 11, p. 1 – 15, nov. 2019. DOI: 10.1371/journal.pone.0225457.

SCHAEFER, E. et al. Embryos derived from donor or patient oocytes are not different for in vitro fertilization outcomes when PGT allows euploid embryo selection: a retrospective study. **Clinical and Translational Medicine**, v. 9, n. 14, s.p. feb. 2020. DOI: 10.1186/s40169-020-0266-1.

SILVA, A.F. et al. **Reação em Cadeia da Polimerase – PCR**. 2016. Disponível em: <http://www.unilago.edu.br/revista/edicaoatual/Sumario/2016/downloads/31.pdf> Acesso em 11 de maio de 2020.

SILVA, L.C.S; et al. Abordagem teórica sobre reprodução humana assistida: principais técnicas, legislações e aspectos éticos. **SAÚDE & CIÊNCIA EM AÇÃO – Revista Acadêmica do Instituto de Ciências da Saúde**, Curitiba, v.4, n.1, jan./jul., 2018. ISSN:24479330.

SO BIOLOGIA, **A multiplicação dos fragmentos de DNA**. Disponível em: <https://www.sobiologia.com.br/conteudos/Biotecnologia/PCR.php>. Acesso em: 03 de julho de 2020.

SOLER, C. V. **Sequenciamento de nova geração na identificação de mutações em scn1a em pacientes com encefalopatias epiléticas da infância**. 2017. 83 f. Dissertação de mestrado - Universidade estadual de campinas, Faculdade de ciências médicas, Campinas, 2017. Disponível em: <http://repositorio.unicamp.br/jspui/handle/REPOSIP/330417>. Acesso em: 10 de julho de 2020.

SOLINHO, M. M. **Inseminação intrauterina: fatores preditivos de sucesso e a realidade da Beira Interior**. 2018. 54 f. Dissertação de Mestrado - Universidade da beira interior, Covilhã, 2018. Disponível em: https://ubibliorum.ubi.pt/bitstream/10400.6/8413/1/6054_12670.pdf. Acesso em: 10 de julho de 2020.

SOUSA, L. M. M. et al. Revisões da literatura científica: tipos, métodos e aplicações em enfermagem. **RPER - Revista Portuguesa de Estudos Regionais**, Porto, v. 1, n. 1, p. 45-54, jun. 2018. DOI: 10.33194/rper.2018.v1.n1.07.4391.

SOUSA, V. et al. Which factors predict the success of intrauterine insemination? Que fatores influenciam o sucesso da inseminação intrauterina intraconjugal? **Acta Obstet Ginecol Port**, Coimbra, v. 11, n. 2, p. 98-103, 2017. Disponível em: <http://www.scielo.mec.pt/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1646-58302017000200006&lng=pt&nrm=iso>. Acessos em: 11 de julho de 2020.

SOUZA, K.K.P.C.; ALVES, O.F. As principais técnicas de reprodução humana assistida. **SAÚDE & CIÊNCIA EM AÇÃO – Revista Acadêmica do Instituto de Ciências da Saúde**, Curitiba, v.2, n.1, jan./jul. 2016. Disponível em: <https://revistas.unifan.edu.br/index.php/RevistaICS/article/view/182/139>. Acesso em: 10 de julho de 2020.

SUEOKA, K. Preimplantation genetic diagnosis: an update on current technologies and ethical considerations. **Reproductive medicine and biology**, Toquio, v. 15, n. 2, p. 69 – 75, abr. 2016. DOI: 10.1007/s12522-015-0224-6.

TAO, X. et al. Weigh the pros and cons to ovarian reserve before stripping ovarian endometriomas prior to IVF/ICSI: A meta-analysis. **PLoS one**, São Francisco, v. 12, n. 6, p. 1-16, jun. 2017. DOI: 10.1371/journal.pone.0177426.

TRINDADE, L. Limites legais na geração de um filho geneticamente escolhido ou manipulado. **Campo Jurídico: Revista de Direito Agroambiental e Teoria do Direito**, São Francisco de Barreiras, v. 5, n. 1, p. 275 – 324, jun. 2017. Disponível em: [file:///C:/Users/ajcan/Downloads/181-781-1-PB%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/ajcan/Downloads/181-781-1-PB%20(1).pdf). Acesso em: 10 de julho de 2020.

VAIARELLI, A. et al. Pre-implantation genetic testing in ART: who will benefit and what is the evidence? **Journal of assisted reproduction and genetics**, Países baixos, v. 33, n. 10, p. 1273 – 1278, out. 2016. DOI: 10.1007/s10815-016-0785-2.

VIEIRA, G. G. et al. Análise retrospectiva dos resultados dos ciclos de fertilização in vitro em pacientes inférteis com endometriose. **Revista Interdisciplinar Ciências Médicas**, Minas Gerais, v. 2, n. 2, p. 44-51, 2018. Disponível em: <file:///C:/Users/ajcan/Downloads/143-737-2-PB.pdf>. Acesso em: 10 de julho de 2020.

WILDING, M. et al. Thaw, biopsy and refreeze strategy for PGT-A on previously cryopreserved embryos. **Facts, views & vision in ObGyn**, Bélgica, v.11, n.3, p. 223-227, 2019. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7020945/pdf/FVVinObGyn-11-223.pdf>. Acesso em: 10 de julho de 2020.

ZHU, F. Y. et al. Comparative performance of the BGISEQ-500 and Illumina HiSeq4000 sequencing platforms for transcriptome analysis in plants. **Plant Methods**, Londres, v. 14, n. 69, p. 1 – 14, ago. 2018. DOI: 10.1186/s13007-018-0337-0.

APÊNDICE

DOENÇAS E SÍNDROMES DIAGNOSTICÁVEIS PELO DIAGNÓSTICO GENÉTICO PRÉ-IMPLANTACIONAL

Acidemia Glutárica	Ictiose congênita – Harlequin
Acidúria Metilmalônica	Imunodeficiência (NEMO)
Acondroplasia	Incontinência Pigmentar ou Síndrome de Bloch-Sulzberger
Adrenoleucodistrofia	Leiomiomatose Hereditária
Agamaglobulinemia	Leucodistrofia Metacromática
Albinismo Ocular	Linfedema Hereditário
Albinismo Oculocutâneo	Linfocitose Hemofagocítica
Amaurose Congênita de Leber ligada ao X	Lipofuscionones Ceróides Neurais – Doença de Batten
Amiloidose	Miastenia Gravis
Anemia de Fanconi	Miocardiopatia Dilatada
Anemia Falciforme	Miopatia com corpos de inclusão associada a Doença de Paget de início precoce e Demência Frontotemporal
Angioedema Hereditário	Miopatia Miotubular
Aniridia	Miopatias Desmina-associadas
Antígeno KELL	Mucopolidose II
Antitripsina Alfa	Muscular Congênita com Deficiência da Merosina
Ataxia Espinocerebelar do Tipo 1	Neoplasia Endocrina Múltipla
Ataxia Espinocerebelar do Tipo 2	Neurofibromatose tipo 1
Ataxia Espinocerebelar do Tipo 3	Neurofibromatose tipo 2
Ataxia Espinocerebelar do Tipo 7	Osteogênese Imperfecta
Atrofia Muscular Espinal	Osteoporose
Atrofia Óptica	Pancreatite Hereditária
Braquidactilia	Paquioníquia Congênita
Braquidactilia – Síndrome de Hipertensão	Paralisia Periódica Hipocalêmica
Cadasil	Polipose Adenomatosa Familiar
Canavan	Pseudo-hipoparatiroidismo
Câncer Hereditário de Mama e Ovário	Querubismo
Cardiomiopatia Hipertrófica	Retinite Pigmentar
Cefalopolisindactilia de Greig ou Síndrome de Greig	Retinoblastoma
Charcot-Marie-Tooth	Retinosquise
Coroideremia	RhD
Deficiência da proteína B do surfactante pulmonar	Sexagem
Deficiência de Carnitina Translocase Acilcarnitina	Síndrome de Aarskog
Deficiência de MCAD	Síndrome de Alagille
Deficiência de Ornitina Transcarbamilase	Síndrome de Alport

Deficiência de Receptor de Leucotrienos Cisteínicos	Síndrome de Denys-Drash
Disautonomia Familiar ou Síndrome de Riley-Day	Síndrome de Ehlers Danlos
Disceratose Congênita	Síndrome de Shwachman-Diamond
Discinesia Ciliar	Síndrome Nefrótica Congênita do tipo Finlandês
Displasia Cleidocraniana	Síndrome Cornélia de Lange
Displasia Ectodérmica	Síndrome da Deficiência de Adesão Leucocitária
Displasia Espondiloepifisaria	Síndrome da Fenda Palatina – Ectrodactilia
Distonia	Síndrome de Bardet-Biedl
Distonia de Torção	Síndrome de Birt-Hogg-Dubé
Distrofia de Sorsby	Síndrome de Cockayne
Distrofia Facioscapulohumeral	Síndrome de Displasia Oculodentodigital
Distrofia Macular	Síndrome de Gerstmann-Straussle
Distrofia Miotônica	Síndrome de Holt-Oram
Distrofia Muscula de Emery-Dreifuss	Síndrome de Hunter
Distrofia Muscular de Duchenne e Becker	Síndrome de Imunodeficiência Grave Combinada (SCID)
Distrofia Muscular do Tipo Cinturas	Síndrome de Joubert
Distrofia Muscular Miotônica	Síndrome de Kallmann
Distúrbios Congênitos da Glicosilação	Síndrome de Leigh
Doença da Urina em Xarope de Ácer	Síndrome de Li-Fraumeni
Doença de Darier	Síndrome de Marfan
Doença de Fabry	Síndrome de Meckel Gruber
Doença de Gaucher	Síndrome de Menkes
Doença de Huntington	Síndrome de Noonan
Doença de Huntington – Nondisclosing	Síndrome de Peutz-Jeghers
Doença de Krabbe	Síndrome de Rothmund-Thomson
Doença de Niemann-Pick	Síndrome de Sanfilippo
Doença de Pompe	Síndrome de Sathre-Chozen (Craniossinostose)
Doença de Tay Sachs	Síndrome de Sjögren-Larson
Doença de Wolman	Síndrome de Smith-Lemli-Opitz
Doença Granulomatosa Crônica	Síndrome de Treacher Collins
Doença Renal Policística	Síndrome de Usher
Doença Renal Policística Autossômica Recessiva	Síndrome de von Hippel-Lindau
Epidermólise Bolhosa	Síndrome de Waardenburg
Esclerose Tuberosa ou Síndrome de Bourneville-Pringle ou Epilóia	Síndrome de Wiskott-Aldrich
Espondilite Anquilosante	Síndrome de Zellweger
Exostose Múltipla	Síndrome do nevo-basocelular
Fator V Leiden	Síndrome do QT longo
Fenilcetonúria	Síndrome do X-Frágil
Feocromocitoma	Síndrome IPEX (imunodesregulação, poliendocrinopatia)
Galactosemia	Síndrome Simpson-Golabi-Behmel
Gangliosidose GM1	Síndrome Walker-Warburg

Glicogenose	Síndromes de Crouzon, Apert e Pfeiffer
Hemofilia B	Surdez Autossômica Recessiva
Hemofilia A	Surdez relacionado ao gene OTOF
Hidrocefalia ligada ao X	Talassemia Alfa
Hiperglicinemia não cetótica	Talassemia Beta
Hiperplasia Adrenal Congênita	Telangiectasia Hemorrágica Hereditária
Hipofosfatasia	Trombocitopenia com Talassemia Beta
HLA	Vitreoretinopatia Exsudativa Familiar

Fonte: Adaptado CORREIA, 2015.